

Aus dem Departement für Nutztiere der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
(Direktor Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. U. Braun)

**Untersuchungen bei Kälbern, die mit Border-Disease infizierten Lämmern
zusammengehalten werden**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Simone Florence Reichle

Tierärztin

von Bischofszell TG

genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun, Referent
Prof. Dr. E. Peterhans, Korreferent

Zürich, 2009

Zentralstelle der Studentenschaft

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. ZUSAMMENFASSUNG	5
2. SUMMARY	6
3. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	7
4. LITERATURÜBERSICHT	9
4.1. Pestiviren-Übersicht	9
4.2. Bovine Virus Diarrhoe/Mucosal Disease	11
4.2.1. Pathogenese	11
4.2.2. Infektion von immunkompetenten Tieren	12
4.2.3. Infektion von serologisch negativen Tieren	13
4.2.4. Persistent infizierte Tiere	14
4.2.5. Entstehung der Mucosal Disease	15
4.2.6. BVDV-Infektion bei anderen Haus- und Wildwiederkäuern	16
4.3. Border Disease	17
4.3.1. Infektion von immunkompetenten Tieren	18
4.3.2. Infektion von serologisch negativen Schafen	18
4.3.3. Persistent infizierte Schafe	20
4.3.4. Late-onset Disease bei persistent infizierten Schafen	22
4.3.5. Border Disease bei Ziegen	22
4.3.6. Border Disease bei Rindern	23
4.3.7. Border Disease Viren bei anderen Tieren	23
5. MATERIAL UND METHODIK	25
5.1. Untersuchte Tiere	25
5.1.1. Tiergruppe A	25
5.1.2. Tiergruppe B	25
5.2. Untersuchungsort und -bedingungen	26
5.3. Phasen der Untersuchung	26
5.3.1. Akklimatisationsphase	27
5.3.2. Infektionsphase	27
5.4. Methodik der Untersuchungen	27
5.4.1. Klinische Untersuchungen	27
5.4.2. Entnahme von Blutproben	28
5.4.3. Entnahme von Nasentupferproben	28
5.5. Untersuchungen der Blut- und Nasentupferproben	29

5.5.1. Nachweis viraler RNA im Blut	29
5.5.2. Nachweis viraler RNA in den Nasentupferproben	29
5.5.3. Antikörpernachweis im Blut	30
5.5.4. Serumneutralisationstest	31
5.5.5. Hämatologische Untersuchungen	32
5.6. Statistik	32
5.7. Zusammenarbeit mit anderen Instituten	33
5.8. Tierversuchsbewilligung	33
6. ERGEBNISSE	34
6.1. Klinische Untersuchungen	34
6.1.1. Allgemeinzustand, Fresslust und Nährzustand	34
6.1.2. Rektale Temperatur	34
6.1.3. Herz- und Kreislaufsystem, Augenausfluss	35
6.1.4. Atemapparat	37
6.1.5. Haut- und Hautanhangsorgane	38
6.1.6. Farbe und Veränderungen der Schleimhäute	38
6.1.7. Verdauungsapparat	42
6.2. Labordiagnostische Untersuchungen	42
6.2.1. Hämatologie	42
6.2.2. Virusnachweis	43
6.2.3. Antikörpernachweis mittels ELISA	43
6.2.4. Serumneutralisationstest (SNT)	44
6.3. Beziehung zwischen der Serokonversion und den klinischen und hämatologischen Befunden	46
7. DISKUSSION	47
7.1. Klinische Befunde	47
7.2. Labordiagnostische Untersuchungen	48
7.2.1. Hämatologische Befunde	48
7.2.1. Nachweis von viraler RNA	50
7.2.3. Antikörpernachweis	51
7.2.4. Serumneutralisationstest	53
7.3. Beziehung zwischen der Serokonversion und den klinischen und hämatologischen Befunden	54
7.4. Schlussfolgerung	55
8. LITERATURVERZEICHNIS	58
9. LEBENSLAUF	70

1. ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Arbeit war es, abzuklären, ob das Border-Disease-Virus bei engem Kontakt von BDV-pi-Lämmern auf seronegative Kälber übertragen werden kann, ob diese transient virämisch werden und ob sie serokonvertieren.

Dazu wurden zwei BDV-pi-Lämmer in eine Gruppe von 9 Kälbern eingebracht. Die Kälber waren negativ in Bezug auf BVDV-RNA, BDV-RNA und BVDV-Antikörper und waren vorher während 4 Wochen in Quarantäne gehalten worden. Die Kälber wurden täglich klinisch untersucht und es wurden in regelmässigen Abständen von 1 bis 2 Tagen Blut- und Nasentupferproben entnommen. Die Blutproben dienten für die hämatologische Untersuchung sowie für den Nachweis von Pestivirus-RNA und deren Antikörper. Die Nasentupferproben wurden ebenfalls auf das Vorhandensein von Pestivirus-RNA untersucht.

Es konnte weder in den Blut- noch in den Nasentupferproben virale RNA nachgewiesen werden. Jedoch hatten nach einer Untersuchungszeit von 72 Tagen 6 der 9 Kälber serokonvertiert. Im Serumneutralisationstest zeigte sich deutlich, dass die gebildeten Antikörper gegen das Border-Disease-Virus und nicht gegen das BVD-Virus gerichtet waren und dass die Tiere deshalb eine Infektion mit dem Border-Disease-Virus durchgemacht haben mussten. Ein Rückschluss auf den genauen Infektionszeitpunkt konnte nicht gezogen werden.

Die Ergebnisse lassen vermuten, dass Border-Disease-Virus infizierte Schafe in Zukunft in der Schweiz durchaus ein Problem darstellen können, vor allem auch im Hinblick auf die BVD-Ausrottung.

2. SUMMARY

The aim of this study was to determine whether lambs persistently infected with Border Disease Virus (BDV) can infect seronegative calves and cause transient viraemia and seroconversion, when kept in close contact.

After a quarantine period of four weeks, two lambs persistently infected with Border disease virus were introduced into a group of nine calves. The calves were negative for pestivirus-specific RNA and BDV and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) serum antibodies. All animals underwent a thorough clinical examination once daily throughout the study. Blood samples were taken for haematological analysis and detection of pestivirus-specific RNA and antibodies every one to two days for 73 days. In addition, nasal swabs were taken for the detection of pestivirus-specific RNA at the time of blood collection.

Pestivirus-specific RNA could not be detected in blood samples or nasal swabs in the calves. However, seroconversion had occurred in six of the nine calves 72 days after introduction of the infected lambs. A serum neutralisation test clearly revealed that the antibodies were directed against BDV and not BVDV. It can therefore be concluded that the calves had become infected with BDV. However, the exact time point of infection could not be determined.

The results indicate that after completion of the current BVDV-eradication program, sheep persistently infected with Border disease virus may pose a risk for the cattle population.

3. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Pestiviren sind in der Wiederkäuerpopulation weit verbreitet. Beim Rind ist es das Bovine-Virus-Diarrhoe-Virus (BVD-Virus), beim Schaf das Border-Disease-Virus (BD-Virus). Es ist bekannt, dass Pestiviren die Speziesbarrieren durchbrechen können und dass es zu gegenseitigen Infektionen zwischen Rind und Schaf kommen kann (CARLSSON, 1991; CARLSSON und BELAK, 1994; CAMPBELL et al., 1995; PATON et al., 1997). Die Interspeziesübertragung scheint unter natürlichen Bedingungen in Richtung vom Rind auf das Schaf besonders ausgeprägt zu sein (LØKEN, 1995). Bis anhin wurde davon ausgegangen, dass persistent infizierte Rinder in vielen Gegenden das wichtigste Virusreservoir für Schafe darstellen. Es existieren nur wenige Hinweise, dass die Infektion auch in umgekehrter Richtung vom Schaf auf das Rind übertragen werden kann (PATON et al., 1997; CRANWELL et al., 2007). Da die Seroprävalenz von Border Disease in der Schweiz beachtlich ist (SCHALLER et al., 2000), ist davon auszugehen, dass auch pi-Tiere existieren, welche die Infektion weiterverbreiten. Da nun seit Oktober 2008 in der Schweiz das BVD-Eradikationsprogramm läuft, gewinnt das Schaf als Pestivirus-Infektionsquelle möglicherweise an Bedeutung, vor allem dann, wenn Schafe und Rinder zusammen geweidet, gealpt oder im Stall gehalten werden. Die Bedeutung des Schafes bei der Übertragung von Pestiviren auf das Rind ist deshalb nicht nur von wissenschaftlichem Interesse, sondern auch von grosser praktischer Relevanz. Sie sollte deshalb im Rahmen dieses Projekts weiter abgeklärt werden.

Das Ziel der Untersuchung war es, abzuklären, ob das Border-Disease-Virus bei engem Kontakt von persistent mit Border-Disease infizierten Lämmern auf seronegative Kälber übertragen werden kann und ob diese serokonvertieren. Gleichzeitig sollte überprüft werden, ob dabei auffallende klinische Symptome und hämatologische Veränderungen festgestellt werden können. Zwei persistent mit dem Border-Disease-Virus infizierte Lämmer wurden zu diesem Zweck in eine

Gruppe von neun seronegativen Kälbern eingebracht und mit diesen zusammen gehalten. Die Tiere wurden täglich klinisch untersucht, und es wurden ihnen regelmässig Blut- und Nasentupferproben entnommen, um eine allfällige transiente Virämie und Serokonversion feststellen zu können.

4. LITERATURÜBERSICHT

4.1. Pestiviren-Übersicht

Pestiviren sind behüllte positiv-Einzelstrang-RNA-Viren (BECHER et al., 1997). Das Genus Pestivirus gehört zusammen mit den Flaviviren zur Familie der Flaviviridae. Es umfasst die vier Spezies, die ursprünglich nach ihrer Wirtsherkunft benannt worden sind: das Bovine-Virus-Diarrhoe-Virus-1 (BVDV-1), das Bovine-Virus-Diarrhoe-Virus-2 (BVDV-2), das Klassische Schweinepestvirus (Classical Swine Fever Virus, CSFV) und das Border-Disease-Virus (BDV) (WENGLER et al., 1991; BECHER et al., 1995; FAUQUET et al., 2005). Allerdings ist heute bekannt, dass Pestiviren nicht streng wirtsspezifisch sind (PATON et al., 1995). Sie wurden bei Schafen (BRAUN et al., 2002), Ziegen (LØKEN, 1982), Gämsen (PIOZ et al., 2007), Giraffen, Wasserbüffeln (PLOWRIGHT, 1969), Bisons (DEREGT et al., 2005), Alpakas (MATTSON et al., 2006), Lamas (WENTZ et al., 2003), Hirschen (NETTLETON, 1990) und einem Rentier (BECHER et al., 2001) festgestellt. Pestiviren besitzen die Fähigkeit, Speziesbarrieren zu durchbrechen und eine Vielzahl von Wirten zu infizieren (BECHER et al., 1997). Es kann auf diese Weise auch zu gegenseitigen Infektionen mit ruminanten Pestiviren zwischen Rind und Schaf kommen (CARLSSON, 1991; CARLSSON und BELAK, 1994; CAMPBELL et al., 1995; NETTLETON und ENTRICAN, 1995; PATON et al., 1997). Die Interspeziesübertragung scheint aber unter natürlichen Bedingungen in eine Richtung, nämlich vom Rind auf das Schaf, besonders ausgeprägt zu sein (LØKEN, 1995). Im Gegensatz dazu konnte das klassische Schweinepestvirus nur bei Hausschweinen und beim Schwarzwild isoliert werden (HARKNESS, 1985). Aufgrund dieser Interspeziesübertragungen werden die Virusisolate heute gemäss ihrer genetischen Verwandtschaft klassifiziert (Abb. 1).

Die Pestiviren der Wiederkäuer sind erfolgreiche und wichtige Erreger, welche weltweit Wiederkäuer infizieren. Seroepidemiologische Untersuchungen haben

gezeigt, dass weltweit zwischen 20 und 89 % der Rinder Träger von Pestvirusantikörpern sind (HOUE, 1995). Bei den Schafen liegt die Seroprävalenz von Pestivirusantikörpern in Abhängigkeit von der untersuchten Region weltweit zwischen 5 und 50 % (NETTLETON et al., 1998).

Aufgrund des Verhaltens der Viren in der Zellkultur kann zwischen zytopathogenen und nicht-zytopathogenen Biotypen differenziert werden (CORIA et al., 1984; BECHER et al., 1996; THÜR et al., 1997; STALDER et al., 2005). Der Erfolg der Pestiviren basiert auf der Fähigkeit des nicht-zytopathogenen Biotyps, die Plazentaschranke zu überwinden und den Fetus zu infizieren, bevor dessen adaptives Immunsystem vollständig ausgebildet ist. Dies kann in der Geburt eines persistent infizierten (pi) gesunden Tieres enden, welches dann für eine erfolgreiche Virusstreuung verantwortlich ist (LØKEN, 1995; NETTLETON und ENTRICAN, 1995).

4.2. Bovine Virus Diarrhoe/Mucosal Disease

Die Seroprävalenz von BVDV in der Schweiz liegt zwischen 60 und 80 % und die Prävalenz von pi-Tieren lag vor Beginn der Ausrottung bei ungefähr 1 % (RÜFENACHT et al., 2000; STALDER et al., 2005). Alle bisher in der Schweiz isolierten BVD-Viren gehören zum Genotyp-1 (BRAUN et al., 2002; STALDER, 2009, persönliche Mitteilung)

4.2.1. Pathogenese

Es wird angenommen, dass sich das BVD-Virus zuerst in der oronasalen Mukosa und in den Tonsillen vermehrt und sich von dort, frei im Serum oder in infizierten Leukozyten, im Körper verbreitet (BROWNLIE, 1991). Akute BVDV-Infektionen führen zu einer kurzen Periode von Virusstreuung (BOLIN und RIDPATH, 1992). Jedoch stellen sich diese akut infizierten Tiere als ineffiziente Überträger des Virus dar (NISKANEN et al., 2000). Die Infektion führt innerhalb von 2 bis 3 Wochen zu einer Produktion von neutralisierenden Antikörpern und schliesslich

zur Elimination des Virus (BROWNLIE et al., 1987; MÖNNIG und PLAGEMANN, 1992; FREDRIKSEN et al., 1999). Selbst nach 3 Jahren können noch hohe Antikörpertiter nachgewiesen werden, so dass keine erneute Reinfektion möglich ist (FREDRIKSEN et al., 1999). Hämatologisch können unter anderem eine Neutro- und Lymphopenie (ROTH et al., 1981; BOLIN et al., 1985), eine Leukopenie mit Linksverschiebung oder aber auch unveränderte Blutwerte (RADOSTITS und LITTLEJOHNS, 1988) beobachtet werden. Neben der direkten Übertragung kann das BVD-Virus auch über die Luft bis zu 10 Metern Distanz übertragen werden (MARS et al., 1999). Das Überleben des Virus in der Aussenwelt ist von der Aussentemperatur abhängig. BENDIXEN (1993) zeigte, dass das Virus in Kot bei 35 °C während drei Stunden, bei 20 °C während drei Tagen und bei 5 °C während drei Wochen überdauern kann.

4.2.2. Infektion von immunkompetenten Tieren

Die Bovine Virusdiarrhoe ist eine akute Erkrankung, welche durch Durchfall, Fieber und Apathie charakterisiert ist (BROWNLIE, 1991; MÖNNIG und PLAGEMANN, 1992; NETTLETON und ENTRICAN, 1995). Vorübergehend kann es auch zu einer verminderten Futteraufnahme kommen und eventuell sind Tachypnoe und seröser bis mukopurulenter Nasenausfluss zu beobachten (BROWNLIE, 1991). Selten treten im Zusammenhang mit dem BVDV-Typ-1 ernste Formen einer Infektion wie zum Beispiel starke akute pneumoenterische Erkrankungen oder Thrombozytopenien und Hämorrhagien auf (REBHUN et al., 1989; BOLIN und RIDPATH, 1992; RIDPATH et al., 2007). Das hämorrhagische Syndrom wird häufiger bei Infektionen mit dem BVDV-Typ-2 beobachtet und zeigt sich in Form einer schweren Thrombozytopenie mit verbreiteten Hämorrhagien und hoher Mortalität (BOLIN und RIDPATH, 1992; PELLERIN et al., 1994; RIDPATH et al., 1994).

4.2.3. Infektion von serologisch negativen Tieren

Pestivirusinfektionen bei serologisch negativen Rindern verlaufen üblicherweise subklinisch oder rufen beim Muttertier milde Symptome hervor. Es besteht ein grosses Risiko der transplazentaren Übertragung des nicht-zytopathogenen Biotyps auf den Fetus. Dies kann zu fetaler Resorption, Abort, Totgeburt, Missbildungen oder zur Geburt eines persistent infizierten Kalbes führen (DONE et al., 1980; LIESS et al., 1982; WEISS et al., 1994; NETTLETON und ENTRICAN, 1995). Oft sind diese Kälber schwach und untergewichtig; sie kümmern und leiden vermehrt an anderen Infektionen, die zu Respirations- und Gastrointestinaltrakt-symptomen führen können. Dennoch ist die Überlebensrate boviner Feten auch bei früh in der Trächtigkeit infizierten Tieren mit bis zu 70 % erstaunlich hoch (NETTLETON und ENTRICAN, 1995).

a) Infektionen zwischen dem 30./40. und dem 100./120. Trächtigkeitstag

Zwischen dem 30. (NETTLETON und ENTRICAN, 1995) / 40. (LIESS, 1985; BAKER, 1987) und dem 100. (NETTLETON und ENTRICAN, 1995) / 120. (LIESS, 1985; BAKER, 1987) Trächtigkeitstag kann die fetale Infektion in fetalem Tod mit Resorption des Kalbes, Abort oder in Immuntoleranz und Entwicklung einer persistenten Infektion resultieren (LIESS, 1985; BAKER, 1987; NETTLETON und ENTRICAN, 1995). Zu diesem Zeitpunkt erkennt das Immunsystem das Virus nicht als fremd, sondern toleriert es als körpereigen (STECK et al., 1980). Aborte können zu jedem Zeitpunkt vom 30. Tag an, das heisst nach der Implantation, auftreten.

b) Infektionen zwischen dem 100. und 150. Trächtigkeitstag

Zwischen dem 100. und 150. Tag ist das adaptive Immunsystem des Fetus nahezu ausgereift. Da dies auch die Zeit des Abschlusses der Organogenese des Nervensystems und der Augen darstellt, kann eine virale Infektion zu einer hohen Inzidenz an Missbildungen wie Alopezie, pulmonärer Hypoplasie, Wachstumsverzö-

gerung, Ataxie, zerebellärer Hypoplasie und anderen zentralnervösen Defekten und okkulären Läsionen führen. Solche Kälber können persistent infiziert sein. Meist sind sie aber virusnegativ und weisen als Zeichen der intrauterinen Sero-konversion einen hohen präkolostralen Antikörpertiter auf (NETTLETON und ENTRICAN, 1995).

c) Infektionen nach dem 150. Trächtigkeitstag

Infektionen des Fetus nach dem 150. Trächtigkeitstag resultieren in einer voll-kompetenten Immunantwort und einer Viruselimination (NETTLETON und ENTRICAN, 1995).

4.2.4. Persistent infizierte Tiere

Persistent infizierte Kälber scheiden das Virus während des ganzen Lebens aus und sind dadurch epidemiologisch von grosser Bedeutung (DUFFEL und HARKNESS, 1985). Sie können untergewichtig und schwach, aber auch völlig unauffällig sein. Zum Teil sind kleine Erosionen an Flotzmaul, Zunge und Gingiva erkennbar. Auch Fieber und Durchfall sind häufig (WEISS et al., 1994; BRAUN et al., 1996). Persistent infizierte Tiere scheiden in allen Körperexkreten und -sekreten infektiöses Virus aus (NETTLETON und ENTRICAN, 1995; BARLOW et al., 1986; MARS et al., 1999), wobei der Nasenausfluss und der Speichel die potentesten Quellen darstellen (NETTLETON und ENTRICAN, 1995). Persistent infizierte Tiere sind essentiell für das Überleben des Virus. Sie stellen die Hauptquelle der Virusverbreitung dar. Das Virus kann allerdings auch nach Entfernung des persistent infizierten Tieres bis zu 2 Jahren als transiente Infektion in einem Bestand zirkulieren (BARBER und NETTLETON, 1993). Kühe, die mit persistent infizierten Tieren tragend sind, weisen einen aussergewöhnlich hohen Antikörpertiter auf (BROWNLIE et al., 1998).

4.2.5. Entstehung der Mucosal Disease

Persistent infizierte Tiere können nach einer Superinfektion mit einem antigene-tisch ähnlichen zytopathischen Biotyp oder nach einer Mutation oder einer Re-kombination eines persistierenden nicht-zytopathogenen Biotyps zu einem zyto-pathogenen Biotyp die letal verlaufende Mucosal Disease entwickeln (DUFFEL und HARKNESS, 1985; BROWNLIE, 1991). Dabei handelt es sich um eine akute oder protrahiert verlaufende fieberhafte Erkrankung mit therapieresistentem fibrinös-hämorrhagischem Durchfall, erosiven bis ulzerativen Veränderungen der Schleimhäute und der Haut im Interdigitalspalt, Apathie und schliesslich letalem Ausgang (BROWNLIE, 1991; NETTLETON und ENTRICAN, 1995). Zusätzlich zu den schon erwähnten klinischen Symptomen sind in den USA einige Fälle auf-getreten, die starke Thrombozytopenien und petechiale und ekchymotische Hä-morrhagien der Schleimhäute aufwiesen (NETTLETON und ENTRICAN, 1995). Der letale Ausgang erfolgt meist innerhalb von 3 Wochen (BROWNLIE et al., 1984). Es konnte aber auch schon ein Zeitraum von 3.5 Monaten beobachtet wer-den (FRAY et al., 1998). Dies kann laut FRITZEMEIER et al. (1997) dadurch er-klärt werden, dass eine Superinfektion eines pi-Kalbes mit einem zytopathogenen Virus zu Mucosal Disease mit zwei verschiedenen pathogenen Mechanismen führt: Entweder führt die Superinfektion direkt zur Mucosal Disease, weil in die-sem Fall das zytopathogene Virus das krankheitsverursachende Agens darstellt. Dann bricht die Mucosal Disease nach einer kurzen Inkubationszeit von 2 bis 3 Wochen aus und wird als früh einsetzende Form der Mucosal Disease (Early-onset Mucosal Disease) bezeichnet. Oder es kann nach einer genetischen Rekombination zwischen dem persistierenden nicht-zytopathogenen BVD-Virus und dem superinfizierten zytopathogenen BVD-Virus verzögert zur Mucosal Disease (Late-onset Mucosal Disease) kommen. Hier dauert die Inkubationszeit mehrere Monate und das pathogene Agens ist nicht identisch mit dem superinfizierenden zytopathogenen Virus (FRITZEMEIER et al., 1997). Ähnliche Beobachtungen wurden von RIDPATH und BOLIN (1995) erhoben. Im Fall der verspäteten

Mucosal Disease werden hohe Titer an neutralisierenden Antikörpern gegen das superinfizierende zytopathogene BVD-Virus erzeugt (MÖNNIG et al., 1993).

4.2.6. BVDV-Infektion bei anderen Haus- und Wildwiederkäuern

Das BVD-Virus kommt nicht nur in der Rinderpopulation vor. Auch unzählige andere Haus- und Wildwiederkäuer können infiziert werden (LØKEN, 1995). Bei in Gefangenschaft lebenden und freilebenden Wiederkäuern wurde von Ausbrüchen berichtet, die der Mucosal Disease von Rindern stark glichen. Von so erkrankten Tieren konnten auch Pestiviren isoliert werden (NETTLETON, 1990; CARLSSON, 1991; LØKEN, 1995; BECHER et al., 1997; MATTSON et al., 2006; BROADDUS et al., 2007).

Bei Schafen und Ziegen ist die BVDV-Infektion von grosser Bedeutung, da diese oft mit Rindern gehalten und geweidet werden (BROADDUS et al., 2007). Vor allem Schafe scheinen von Natur aus empfindlich für eine Infektion mit Pestiviren zu sein und bei ihnen scheint die Interspeziesübertragung vom Rind besonders ausgeprägt zu sein (LØKEN, 1995). Aus Schafen konnten schon BDV, BVDV-1- (BECHER et al., 1994; VILČEK et al., 1997; WILLOUGHBY et al., 2006) und BVDV-2- Stämme (VILČEK et al., 1997) isoliert werden. Inokulationen von trächtigen Schafen mit BVDV in verschiedenen Trächtigkeitsstadien resultierten in Aborten und Geburten von persistent infizierten Lämmern (SCHERER et al., 2001). PATON et al. (1997) berichteten von einer Pestivirusinfektion, die durch direkten Kontakt von einem persistent infizierten Ochsen auf trächtige Schafe übertragen wurde. Dies führte zur Geburt von persistent infizierten Lämmern, welche das Virus erneut auf trächtige Rinder übertrugen. Zwei dieser Rinder gebaren persistent infizierte Kälber, deren Virus wiederum auf Schafe übertragen werden konnte, was erneut zu pi-Lämmern führte.

BVDV-Infektionen bei nichtträchtigen Ziegen verlaufen wie beim Schaf ebenfalls oft subklinisch. Klinische Symptome aufgrund einer BVDV-Infektion unterscheiden sich von denen der Schafe dadurch, dass Aborte, vor allem aufgrund einer Pla-

zentitis (BROADDUS et al., 2009), öfters als persistent infizierte Tiere auftreten (DEPNER et al., 1991). BACHOFEN et al. (2005) berichteten von einem persistent infizierten Ziegenkitz, dessen Mutter während der Trächtigkeit zusammen mit einem persistent infizierten Kalb gehalten wurde.

Bei Neuweltkameliden verlaufen BVDV-Infektionen subklinisch (WENTZ et al., 2003) oder es treten Kümmeren, Durchfall, fetaler Tod oder Aborte auf (CARMAN et al., 2005; MATTSON et al., 2006; FOSTER et al., 2007). Pi-Tiere konnten bisher nur bei Alpakas (CARMANN et al., 2005; MATTSON et al., 2006; FOSTER et al., 2007) jedoch nicht bei Lamas nachgewiesen werden (WENTZ et al., 2003).

Von BVDV-Infektionen bei Tieren, die nicht den Wiederkäuern angehören, existiert keine Literatur.

4.3. Border Disease

Border Disease (BD) ist eine kongenitale Viruserkrankung bei Schafen, die erstmals von HUGHES et al. (1959) in der Grenzregion zwischen England und Wales („border regions“) bei Lämmern beschrieben wurde. In der Schweiz wurde das Border-Disease-Virus erstmals 2001 von PETERHANS und Mitarbeitern isoliert (BRAUN et al., 2002). Die Seroprävalenz von Border Disease in der Schweizer Schafpopulation liegt bei 20 % und kann in grossen Schafherden sogar 65 % erreichen (SCHALLER et al., 2000).

Border Disease kann durch BDV, BVDV-1 und BVDV-2 (CARLSSON, 1991; CARLSSON und BELAK, 1994; CAMPELL et al., 1995; SULLIVAN et al., 1997) ausgelöst werden. Bei allen drei genannten Virustypen wird die Erkrankung bei Schafen in der Literatur als Border Disease bezeichnet. Es scheint sogar, dass BVDV innerhalb der Schafpopulation von grösserer epidemiologischer Bedeutung ist als BDV (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2006; SCHLEINER et al., 2006). Mehrere Studien haben gezeigt, dass persistent mit BVDV infizierte Rinder

die Ursache für Ausbrüche von Border Disease bei Schafen darstellen können (FRENCH et al., 1974; CARLSSON, 1991; CAMPBELL et al., 1995).

Die Anwesenheit von Border Disease in einer Herde geht oft mit einer hohen Anzahl an unfruchtbaren Schafen, Aborten, Totgeburten und Geburten von kleinen, lebensschwachen Lämmern mit Missbildungen und Vliesveränderungen, zum Teil mit starken Pigmentationen, abnormem Körperbau und Zittern aufgrund der Degeneration und der Missbildung des zentralen Nervensystems, einher (BARLOW und PATTERSON, 1982; TERPSTRA, 1985; SAWYER, 1992; LØKEN, 1995; NETTLETON und ENTRICAN, 1995; NETTLETON et al., 1998). Die klinischen Auswirkungen einer Border-Disease-Erkrankung äussern sich je nach Infektionszeitpunkt unterschiedlich (NETTLETON et al., 1998). THABTI et al. (2002) vermuteten, dass verschiedene Rassen eine unterschiedliche Empfindlichkeit aufweisen können.

4.3.1. Infektion von immunkompetenten Tieren

Mit BDV transient infizierte, gesunde Lämmer und erwachsene Schafe zeigen nur geringe oder keine Krankheitssymptome. Leichtgradiges Fieber und eine Leukopenie sind typisch für die Virämiephase, die während dem 4. und 11. Tag nach der Infektion auftritt. Neutralisierende Antikörper können ab dem 11. bis 14. Tag nach einer Infektion nachgewiesen werden (NETTLETON et al., 1998).

4.3.2. Infektion von serologisch negativen Schafen

Während die initiale Infektion eines serologisch negativen Mutterschafs mild oder sogar subklinisch verläuft (NETTLETON et al., 1998), sind die Konsequenzen für den Fetus gravierend. Das Virus breitet sich schnell über die Plazenta aus und infiziert den Fetus innerhalb der ersten Infektionswoche (BARLOW und PATTERSON, 1982). Der fetale Tod kann grundsätzlich während jedem Trächtigkeitsstadium, am häufigsten jedoch im Frühstadium, auftreten. Während dieser Zeit kommt es meist zur Resorption des Fetus. Gegen Ende der Trächtigkeit treten oft

Aborte und Totgeburten auf oder es werden kleine, schwache Lämmer geboren (NETTLETON et al., 1998). Die klinischen Symptome bei den Lämmern sind sehr unterschiedlich. Sie hängen von der Rasse, der Virusvirulenz und vom Infektionszeitpunkt ab (BARLOW und PATTERSON, 1982; NETTLETON et al., 1998).

a) Infektion zwischen dem 60. und 80. Trächtigkeitstag

Vor der Entstehung der Immunkompetenz kann sich das Virus unkontrolliert reproduzieren. Die fetale Sterblichkeitsrate liegt bei 50 % (NETTLETON et al., 1998). Wenn Feten während dem 60. und 80. Tag, das heisst zu Beginn der Entwicklung des Immunsystems infiziert werden, sind die Folgen weniger vorhersehbar. Während dieser Zeit ist der fetale Tod seltener. Einzelne Lämmer können als persistent infizierte Tiere geboren werden. Jedoch können Infektionen während dieser Zeit auch zu einer weitverbreiteten entzündlichen Läsion im Zentralnervensystem führen (BARLOW und PATTERSON, 1982; BONNIWELL et al., 1987). Solche Lämmer zeigen deshalb gravierende zentralnervöse Störungen und weisen oft einen sehr hohen Antikörpertiter gegen das Border-Disease-Virus auf (ROEDER et al., 1987). Es wird vermutet, dass BDV-Infektionen bei nichtträchtigen Schafen zu tieferen Antikörpertitern führen als solche bei trächtigen (SAWYER et al., 1986).

b) Infektionen nach dem 80. Trächtigkeitstag

Fetale Infektionen nach dem 80. Tag der Trächtigkeit sind gekennzeichnet durch ein Immunsystem, das zu einer Viruselimination fähig ist. Praktisch alle Lämmer werden gesund und frei von Antigen, jedoch mit hohen Antikörpertitern gegen das Border-Disease-Virus geboren (BARLOW und PATTERSON, 1982; NETTLETON et al., 1998). Doch auch während dieser Zeitperiode können Totgeburten oder Geburten von lebensschwachen Lämmern mit nervösen Symptomen, Bewegungsapparat- oder Körpermisbildungen auftreten. Solche Tiere sterben meist

innert kürzester Zeit. Bei diesen Lämmern werden zerebelläre Hypo- und Dysplasien, Hydran- und Porenzephalien, resultierend von einer nekrotisierenden Entzündung gefunden (NETTLETON et al., 1998). Die schwerwiegenden Veränderungen scheinen aufgrund einer zellvermittelten Immunantwort zu entstehen (BARLOW und PATTERSON, 1982; NETTLETON et al., 1998).

4.3.3. Persistent infizierte Schafe

Persistent infizierte Lämmer entstehen bei einer Infektion vor dem 80. Trächtigkeitstag. Solche Lämmer sind tolerant gegenüber dem Virus und bleiben lebenslang persistent infiziert (NETTLETON, 1990). Eine präkolostrale Blutprobe ist Antigen positiv und Antikörper negativ. Die typischen pathologischen Veränderungen bei diesen Tieren zeigen sich im zentralen Nervensystem und in der Haut (NETTLETON et al., 1998). Border Disease ist charakterisiert durch üblicherweise kleine und schwache Lämmer, die oft nicht selbstständig stehen können, rhythmischen Tremor zeigen, abnormales langes haariges Vlies aufweisen (BARLOW und PATTERSON, 1982; TERPSTRA, 1985) und Missbildungen im Bereich des Gesichtsschädels und der langen Röhrenknochen zeigen (NETTLETON und ENTRICAN, 1995; NETTLETON et al., 1998). Immer wieder können bei mit BDV infizierten Tieren auch Myokardläsionen beobachtet werden (CARLSSON und BELÁK, 1994). Der Tremor variiert von heftigen rhythmischen Kontraktionen der Nachhandmuskulatur bis zu kaum wahrnehmbarem Zittern des Kopfes, der Ohren und des Schwanzes. Vliesabnormalitäten sind vor allem bei stark behaarten Rassen im Nacken- und Rückenbereich sichtbar. Teilweise können bei betroffenen Lämmern auch braune oder schwarze Pigmentflecken auf dem Fell auftreten (NETTLETON et al., 1998). Der Tremor tritt aufgrund von Myelindefiziten im ZNS auf, und das haarige Erscheinungsbild entsteht aufgrund einer stark erhöhten Anzahl an primären Haarfollikeln (NETTLETON et al., 1998). Betroffene Lämmer werden aufgrund der Symptome als „hairy shakers“ bezeichnet (TERPSTRA, 1985; NETTLETON et al., 1998). Aufgrund der geringen Patho-

genität gewisser Virusstämme können einige Lämmer jedoch auch ohne klinische Symptome und nur mit geringen pathologischen Läsionen geboren werden (BONNIWELL et al., 1987). Viele der betroffenen Lämmer sterben vor dem Erreichen des geschlechtsreifen Alters. Bei sorgfältiger und intensiver Betreuung können persistent infizierte Schafe gelegentlich überleben, sich fortpflanzen und das Virus auf die Nachkommen übertragen. Bei Lämmern mit zentralnervösen Befunden können die Symptome allmählich abnehmen und im Alter von 3 bis 6 Monaten vollständig verschwinden. Schwäche und Zittern können jedoch bei Stresssituationen manifest werden und der Tod kann jederzeit eintreten (NETTLETON et al., 1998). Es wurde aber auch von persistent infizierten Schafen berichtet, die bis zu 66 Monate alt geworden sind und klinisch über lange Zeit unauffällig blieben (LØKEN, 1995).

Persistent infizierte Tiere spielen im Pestivirus-Infektionsgeschehen als Hauptinfektionsquelle eine bedeutende Rolle, da sie über Körpersekrete und -exkrete zeitlebens grosse Virusmengen ausscheiden (TERPSTRA, 1981; LØKEN, 1995). Lämmer von persistent infizierten Auen sind, von seltenen Ausnahmen abgesehen (SAWYER et al., 1986), ebenfalls persistent infiziert (BARLOW et al., 1980; NETTLETON et al., 1998). Pi-Böcke weisen eine verminderte Fruchtbarkeit auf. Das Virus kann beim Deckakt durch die infektiösen Spermien auf das weibliche Tier übertragen werden (NETTLETON et al., 1998). Je nach Nachweismethode ist eine persistente Infektion erst ab dem zweiten Lebensmonat nachweisbar, wenn das Virus nicht mehr von den kolostralen Antikörpern neutralisiert wird. In pi-Tieren, die älter als 4 Jahre sind, kann sich ein tiefer Antikörpertiter entwickeln (NETTLETON et al., 1992). Geringe Antikörpermengen im Serum von pi-Schafen können ein möglicher Grund für eine nicht erfolgreiche Virusisolation darstellen (FENTON et al., 1990).

4.3.4. Late-onset Disease bei persistent infizierten Schafen

Persistent infizierte Tiere haben eine gesteigerte Empfänglichkeit für andere Infektionen (TERPSTRA, 1985) und sterben daher oft früh aufgrund verschiedener Ursachen. Betroffene Schafe können spontan starken Augen- und Nasenausfluss, manchmal kombiniert mit respiratorischen Symptomen, aufweisen. Oft erkranken sie an unstillbarem Durchfall und sterben an Enterocolitis. Pathologisch-anatomisch können bei solchen Schafen Läsionen der Maulschleimhaut und des Oesophagus sowie eine starke Verdickung von Ileum, Zäkum und Kolon gefunden werden. Aus dem Darm kann oft zytopathisches Border-Disease-Virus isoliert werden (BARLOW et al., 1983; NETTLETON et al., 1992; MONIES und SIMPSON, 1997).

4.3.5. Border Disease bei Ziegen

Über Border Disease bei Ziegen liegen nur wenige Berichte vor. Serologische Untersuchungen in verschiedenen Ländern zeigen jedoch, dass die Infektion weit verbreitet sein muss (LØKEN et al., 1990; KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2006). Ziegen sind neben dem Border-Disease-Virus auch für das BVD-Virus empfänglich, wenn sie zusammen mit persistent infizierten Rindern gehalten werden (BROADDUS et al., 2007). Es konnte sowohl BVDV-1 (PRATELLI et al., 2001) als auch BVDV-2 (KIM et al., 2006) nachgewiesen werden.

Eine Infektion von trächtigen Ziegen führt wegen einer schweren Plazentitis zu Aborten (LØKEN und BJERKÅS, 1991) und zu hohen Sterblichkeitsraten unter den Jungtieren (BARLOW und PATTERSON, 1982; LØKEN und BJERKÅS, 1991; HURTADO et al., 2004). Bis anhin sind nur wenige persistent infizierte Ziegen lebend geboren worden (HURTADO et al., 2004; BACHOFEN et al., 2005). Die betroffenen Tiere wiesen von Geburt an Tremor am ganzen Körper auf (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2007; KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2008b). Nach LØKEN et al. (1982) können aus dem Tremor später tonisch-klonische Krämpfe am ganzen Körper hervorgehen (LØKEN et al., 1982).

4.3.6. Border Disease bei Rindern

Pestivirusaustausch zwischen Schafen und Rindern tritt leicht auf (CARLSSON, 1991; CARLSSON und BELAK, 1994; CAMPBELL et al., 1995; PATON et al., 1997). Auch Ausbrüche von Border Disease aufgrund einer Virusübertragung vom Rind auf das Schaf sind beobachtet worden (CARLSSON, 1991). Bis jetzt liegen aber erst wenige Hinweise für eine natürliche Übertragung vom Schaf auf das Rind vor (PATON et al., 1997). BECHER et al. (1997) konnten zeigen, dass es sich bei einem Pestivirus, das 1960 von einem Rind in Australien isoliert wurde, um ein Border-Disease-Virus handelte. CARLSSON und BELÁK, (1994) beschrieben eine Übertragung von Border-Disease-Virus von einem persistent infizierten Schaf auf Rinder. Später wurde dieses Virus sequenziert und es stellte sich heraus, dass es sich dabei nicht um BD-, sondern um BVD-Virus handelte (PATON et al., 1995b). Kürzlich berichteten CRANWELL et al. (2007) über den Nachweis von Border-Disease-Virus bei infizierten Rindern, und KRAMETTER-FRÖTSCHER et al. (2008) wiesen nach, dass Border-Disease-Virus-Infektionen von persistent infizierten Schafen auf Rinder möglich sind.

4.3.7. Border Disease Viren bei anderen Tieren

Es existieren keine Berichte von Border-Disease-Viren, die von Schweinen auf Wiederkäuer übertragen wurden. Beim Schwein wurde jedoch eine der klassischen Schweinepest sehr ähnliche Erkrankung beschrieben, welche durch ein Border-Disease-Virus verursacht wurde (ROEHE et al., 1992). Darüber hinaus konnte ein Pestivirus aus Schweinen isoliert werden, welches den Border-Disease-Viren zugeordnet werden konnte (VILČEK und BELÁK, 1996).

Von Border Disease bei Gämsen wurde in den französischen (PIOZ et al., 2007) und spanischen Pyrenäen (IGNASI et al., 2008) berichtet. Im Gegensatz zu den spanischen Pyrenäen konnten in den französischen Pyrenäen kein Massensterben oder sonstige klinische Symptome beobachtet werden. In den spanischen Pyrenäen wurden bei den Tieren Apathie, Schwäche, Abmagerung, Bewegungsanomalien,

Alopezie mit Hauthyperpigmentation, abnormes Verhalten und Fehlen der Fliegenabwehr beobachtet. Es handelte sich bei diesem Ausbruch um den ersten Fall, bei welchem ein Border-Disease-Virus in Zusammenhang mit einer Krankheit bei Wildtieren gebracht werden konnte, die einen grossen Einfluss auf diese bewirkte und eine hohe Mortalität aufwies (IGNASI et al., 2008).

Da noch von über 50 anderen Wiederkäuerarten bekannt ist, dass sie mit Pestiviren infiziert sind, besteht die theoretische Möglichkeit, dass Schafe und Ziegen nach Kontakt mit Wildtieren Border Disease entwickeln können (NETTLETON, 1990).

5. MATERIAL UND METHODIK

5.1. Untersuchte Tiere

Die Untersuchungen wurden zwischen dem 12. Juni 2007 und dem 23. August 2007 an neun Stierkälbern (Tiergruppe A) durchgeführt. Diese wurden während dieser Zeit mit zwei persistent mit Border-Disease-Virus infizierten Schafen (Tiergruppe B) zusammengehalten.

5.1.1. Tiergruppe A

Die Gruppe A bestand aus neun Stierkälbern aus sechs verschiedenen Betrieben. Davon gehörten drei der Fleckvieh-, zwei der Holstein Friesian- und vier der Braunviehrasse an. Die Kälber waren zu Beginn der Akklimatisationsphase 99 bis 156 Tage (131 ± 18.8 Tage) alt. Alle neun Tiere waren unmittelbar vor dem Zukauf mit negativem Ergebnis sowohl auf BVDV- und BDV-Antigen als auch auf BVDV-Antikörper getestet worden. Die Kälber waren schon während der Akklimatisationsphase von Trichophytie befallen und wurden deshalb ab dem Tag 8 der Infektionsphase in Intervallen von 3 – 4 Tagen bis zum Tag 37 der Infektionsphase mit einem Breitspektrum-Antimykotikum (Enilconazol, Imaverol[®], Bio-kema SA, Crissier) lokal behandelt. Die Tiere waren zu Beginn der Infektionsphase 129 bis 186 Tage (161 ± 18.8 Tage) alt.

5.1.2. Tiergruppe B

Die Gruppe B bestand aus zwei weiblichen Schafen im Alter von einem Jahr. Beide waren im Jahr 2006 geboren. Beim einen Tier handelte es sich um ein Weisses Alpenschaf (Nr. 1), beim anderen um ein Schwarzbraunes Bergschaf (Nr. 2). Das Schaf 1 wurde im Alter von 2 Tagen ans Tierspital Zürich gebracht, da es typische Symptome von Border Disease wie Ataxie, Tremor und haariges Vlies aufwies. Das Schaf 2 wurde im Alter von 3 Monaten mit Kopftremor und Ataxie ans Tierspital Zürich überwiesen. Bei beiden Tieren war die immunohistochemi-

sche Untersuchung von Hautbiopsien auf Pestivirusantigen (THÜR et al., 1997; BRAUN et al., 2002; ARQUINT, 2003) positiv gewesen. Beim Schaf 1 war über einen Zeitraum von einem Jahr infektiöses Virus mittels RT-PCR auch in Leukozyten und intermittierend in Nasentupfern nachgewiesen worden. Beim Schaf 2 war der mehrmalige Virusnachweis aus Serum, Leukozyten, Haaren, Urin, Maul- und Nasentupfern gelungen. Das aus Leukozyten isolierte Virus wurde beim Schaf 1 als CH-BD4 und beim Schaf 2 als CH-BD3 bezeichnet (Abb. 1). Zudem waren beide Tiere auf ovines Herpesvirus Typ 2 positiv.

5.2. Untersuchungsort und -bedingungen

Die Untersuchungen wurden in einem Rinderstall, der mittels Gittern zu einem Laufstall umfunktioniert wurde, durchgeführt. Seine Fläche betrug 56.1 m², die Höhe 2.9 m und das Volumen 162.7 m³. Die Tiere hatten täglich zwischen 1 und 4 Stunden Auslauf (1.5 ± 1.2 Stunden) auf einem betonierten, eingezäunten Platz (64.7 m²). Die Fütterung bestand aus Heu ad libitum, Kälberkraftfutter und einem Ergänzungsfuttermittel (Totalin[®], Werner Stricker AG, Zollikofen). Gleichzeitig stand allen Tieren ein mineralisierter Salzleckstein zur Verfügung. Die Tiere hatten freien Zugang zur Wassertränke. Der Stall war mit einer Liegematte aus Stroh eingestreut, die jeden Tag erneuert wurde. Die Aussen- und Innentemperaturen wurden täglich gemessen. Die Stalltemperatur lag zwischen 15.3 und 23.2 °C (19.3 ± 1.7 °C) und die Luftfeuchtigkeit zwischen 48.0 und 81.0 % (67 ± 6.2 %). Die Aussenlufttemperatur schwankte während des täglichen Auslaufs zwischen 11.7 und 32.0 °C (18.4 ± 4.3 °C), die Luftfeuchtigkeit zwischen 32.0 und 85.0 % (67.3 ± 11 %). Den Schafen stand ein Lämmerschlund von 7.8 m² als Rückzugsmöglichkeit zur Verfügung.

5.3. Phasen der Untersuchung

Die Untersuchungen gliederten sich in eine Akklimatisations- und eine Infektionsphase.

5.3.1. Akklimatisationsphase

Die Akklimatisationsphase dauerte 30 Tage und diente der Angewöhnung und Überwachung der Tiere. Sie stellte zugleich eine Quarantänephase dar. Kein Tier durfte während dieser Phase den serologischen Status verändern. Durch strikte Kleidervorschriften wurde das Risiko einer Virusübertragung klein gehalten. Dazu gehörten die Stiefeldesinfektion mit Incidin[®] PLUS (Ecolab GmbH, Muttentz) und die Händedesinfektion mit Baktolin[®] und Sterilium[®] (Bode Chemie, D- Hamburg) sowie der tägliche Wechsel von separater Schutzkleidung. Die Schafe wurden während der Akklimatisationsphase an einem von den Kälbern getrennten Ort gehalten und von anderen Personen betreut.

5.3.2. Infektionsphase

Die Infektionsphase begann am Ende des Tags 0, als die beiden pi-Schafe in die Herde der 9 Kälber verbracht wurden. Die Infektionsphase sollte so lange dauern, bis 6 von 9 Kälbern serokonvertiert hatten. Dies war nach 72 Tagen der Fall gewesen.

5.4. Methodik der Untersuchungen

5.4.1. Klinische Untersuchungen

Die Kälber wurden zu Beginn und am Ende der Akklimatisationsphase gründlich klinisch untersucht. Die rektale Temperatur wurde in der Akklimatisationsphase wöchentlich gemessen.

Während der Infektionsphase wurden die Kälber täglich klinisch untersucht. Beurteilt bzw. gemessen wurden das Allgemeinbefinden, die rektale Temperatur, das Herz- und Kreislaufsystem sowie der Atem- und Verdauungsapparat. Im Weiteren wurden die Schleimhäute sowie die äussere Haut beurteilt.

5.4.2. Entnahme von Blutproben

Für den BVD-Antikörper- und -antigennachweis wurden ab dem Tag 0 alle 2 Tage und ab dem Tag 6 bis zum 20. Tag täglich, danach bis zum Tag 72 im Abstand von 2 Tagen Blutproben entnommen. Für die hämatologischen Untersuchungen wurden ab dem Tag 0 alle 3 Tage und ab dem Tag 6 bis zum Tag 14 täglich, danach bis zum Tag 72 im Abstand von 2 Tagen Blutproben entnommen. Die Blutentnahmen erfolgten abwechselnd aus beiden Jugularvenen. Die Haut über der Jugularvene wurde zu diesem Zweck rasiert, mit Hibiscrub® (Globopharm, Küssnacht) gewaschen, mit Alkohol entfettet und mit Hibitan® (Chlorhexidin, SSL Healthcare, Reinach) desinfiziert. Die Vene wurde manuell oder mit Hilfe einer Staukette gestaut. Mit Hilfe von Vakuumröhrchen (Vacurette, Greiner Bio-One GmbH, A-Kremsmünster) wurden je 6 ml EDTA-Blut, 6 ml Serum und 2 ml EDTA-Blut entnommen. Die 6 ml EDTA-Blutprobe wurde für den BVD-Antigennachweis, die 6 ml Serumprobe für den Antikörpernachweis und die 2 ml EDTA-Blutprobe für die hämatologische Untersuchung verwendet. Allfällige Schwellungen wurden mit einem heparinartigen Gel (Hepa Gel®, Spirig Pharma AG, Egerkingen) lokal behandelt.

5.4.3. Entnahme von Nasentupferproben

Am Tag der Blutentnahmen wurden zusätzlich bis zum Tag 41 der Infektionsphase von allen neun Kälbern, ab dem Tag 42 noch von drei Kälbern (Nr. 2, 5, 6) und ab dem Tag 66 von zwei Kälbern (Nr. 5, 6) Tupferproben aus der Nase entnommen (Tupfersystem Amies Agar Gel 108C, Copan, Italia SPA). Dabei wurde jeweils ein Nasentupfer in eine Nasenöffnung eingeführt und durch vorsichtiges Drehen wurde etwas Sekret gewonnen. Nach der Probenentnahme wurden die Tupfer in die Röhrchen mit Medium gesteckt, gut verschlossen und zur virologischen Untersuchung an das Institut für Veterinär-Virologie der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern versandt.

5.5. Untersuchungen der Blut- und Nasentupferproben

5.5.1. Nachweis viraler RNA im Blut

Der Nachweis viraler RNA im EDTA-Blut und Nasentupfer-Medium erfolgte mittels quantitativer RT-PCR. Für die vorgängige RNA-Isolation aus antikoaguliertem Vollblut wurden das BioRobot-Universal-System und der QIAamp-Virus-BioRobot-MDx-Kit, beide von QIAGEN (QIAGEN AG, Hombrechtikon), verwendet. Anschliessend wurde die RNA entsprechend dem Protokoll des Cador-BVDV-RT-PCR Kits (QIAGEN) mit dem Master-Mix, welcher alle Reagenzien und Enzyme für die Reversetranskription und die spezifische Amplifikation enthält, und der internen Kontrolle, welche eine Hemmung der RT-PCR durch möglicherweise in der Probe vorhandene Inhibitoren anzeigt, gemischt. Die im Master-Mix enthaltenen Primer und Sonden erkennen eine bei Pestiviren konservierte Genom-Sequenz (Panpesti) und können darum auch für die Detektion von Border-Disease-Virus verwendet werden. Als Kontrolle wurde virale RNA des BDV-Stammes „Moredun“ mitgeführt. Für die Reaktion wurde der Thermocycler ABI 7300 verwendet (Applied Biosystems, Rotkreuz). Nach Auswertung der Rohdaten wurde die in der Probe vorhandene virale RNA-Menge in CT-Werten ausgedrückt, wobei ein CT-Wert < 45 als positiv galt. Die RNA-Isolation und RT-PCR-Präparation wurden in speziell dafür vorgesehenen und räumlich getrennten Labors durchgeführt.

5.5.2. Nachweis viraler RNA in den Nasentupferproben

Die Nasentupfer wurden mit einer abgeflammtten Pipette aus dem Transport-Röhrchen entfernt und in ein 15-ml-Röhrchen (Sarstedt AG, Sevelen) gesteckt, das vorgängig mit 2 ml Zellkultur-Medium bestückt worden war (Earle's Minimal Essential Medium (MEM) von Seromed (Biochrom, München) mit 2 % fetalem Kälberserum (frei von Pestivirus und Antikörpern gegen Pestiviren von Oxoid GmbH (Wesel, Deutschland)). Nachdem die Medium-Röhrchen mit den Tupfern gut aufgemischt worden waren (Vortex Reagenzglas mixer), konnte der Tupfer entfernt

und das Medium für die weiteren Untersuchungen verwendet werden. Als Positiv-Kontrollen wurden Nasentupfer eines BVDV persistent infizierten Kalbes verwendet. Die Analyse erfolgte nach dem unter 5.5.1. beschriebenen Verfahren für den viralen RNA-Nachweis im Blut.

5.5.3. Antikörpernachweis im Blut

Um den Zeitpunkt der Serokonversion möglichst genau festlegen zu können, wurden alle Blutproben fortlaufend auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen Pestiviren untersucht. Dazu wurde der am Institut für Veterinär-Virologie der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern entwickelte In-House-Antikörper-ELISA verwendet. Für diesen Test wurden Mikrotiterplatten (Maxisorp, A/S Nunc, Kamstrup, Dänemark) kolonnenweise alternierend mit je 100 µl/Delle Virusantigen (mit dem cp BVD-Virus A1138/69 [BVDV-1a] infizierte, Tween20 behandelte Zellkulturen) respektive negativem Kontrollantigen (nicht infizierte Zellkulturen) in einer definierten Verdünnung mit Beschichtungspuffer (0.1 M Natriumkarbonat-Bikarbonat, pH 9.6) beschichtet und während 16 Stunden bei +4 °C in einer feuchten Kammer inkubiert. Die beschichteten Platten wurden anschliessend dreimal mit Waschpuffer (0.5 M NaCl; 0.02 M Tris; 0.005 % Tween 20, pH 8.0) gewaschen. Die Vollblutproben (nicht antikoaguliert) wurden während 10 Minuten bei 2000 x g zentrifugiert, wodurch sich das Serum vom Blutkoagulum abtrennte und abpipettiert werden konnte. Die Serumproben wurden 1:10 in 1% Milchpuffer (Bio-Magermilchpulver, gelöst in Waschpuffer) verdünnt und in die Platten verteilt (100 µl/Delle). Nach einer einstündigen Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Platten dreimal mit Waschpuffer gewaschen. Für den Nachweis der gebundenen Antikörper wurde an Peroxidase gekoppeltes Ziegen-anti-Rinder IgG (Microtec Produkte AG, Embrach) in jede Delle pipettiert und bei Raumtemperatur während 60 Minuten inkubiert. Nach erneutem dreimaligem Waschen mit Waschpuffer wurde zur Sichtbarmachung der konjugierten Antikörper die Chromogenlösung ABTS (Roche Diagnostics, Indianapolis, USA) zugegeben

und die Färbung mittels eines ELISA-Platten-Lesers gemessen (Extinktion bei $\lambda = 405 \text{ nm}$).

Um den Verlauf des Antikörper-Titers abschliessend besser beschreiben und zwischen einzelnen Tieren vergleichen zu können, wurden die Proben einzelner Zeitpunkte im gleichen ELISA-Ansatz getestet. Aufgrund der höheren möglichen Probenzahl pro Platte wurde dafür der Herd Check-BVDV-Antikörper-ELISA-Kit von Idexx (Idexx Laboratories B.V., Schiphol-Rijk, Niederlande) gemäss der Vorschrift des Herstellers verwendet.

5.5.4. Serumneutralisationstest

Da der Antikörper-ELISA Antikörper gegen alle Pestiviren nachweist, musste mittels Serumneutralisationstests (SNT) festgestellt werden, gegen welches Virus die Antikörper gerichtet waren. Dafür wurden die Seren der Zeitpunkte 0 und 72 Tage in Zellkulturmedium in 1:2 Schritten zunehmend verdünnt. Die eine Hälfte des Volumens jeder Verdünnungsreihe wurde mit einer festgelegten Menge BDV (CH-BD4, isoliert aus Leukozyten des pi-Schafs 1196.5820), die andere mit BVDV (CH-04-01b, isoliert aus einem Schweizer pi-Kalb; BACHOFEN et al., 2008) 1:2 gemischt. Die Virus-Serum-Mischungen wurden 60 Minuten bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Anschliessend wurde jede Verdünnung in 6 Dellen (100 µl/Delle) einer 96-er-Mikrotiterplatte verteilt. Der Boden der Dellen wurde vorgängig mit embryonalen Kälbernasen-Epithelzellen (EKaNaEp) für den BVDV- und LSM-Zellen für den BDV-Nachweis beschichtet. Die Platten wurden während 5 Tagen bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Anschliessend wurden die mit Pestivirus infizierten Zellen mittels polyklonaler Immunperoxidase-Färbung (IPO-Färbung) sichtbar gemacht (ADLER et al., 1994). Um die eingesetzten Mengen BDV und BVDV zu überprüfen (Rücktitration), wurden diese in Zellkulturmedium in 1:10 Schritten verdünnt und jede Verdünnung in 6 Vertiefungen einer mit EKaNaEp oder LSM-Zellen beschichteten Mikrotiterplatte verteilt und während 5 Tagen bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Die viralen Proteine wurden anschliessend

mittels IPO-Färbung sichtbar gemacht und der Virustiter in „Zellkultur infektiöse Dosis 50“ (TCID₅₀, Tissue Culture Infectious Dose 50) nach der Methode von REED und MUENCH (1938) berechnet. Der Titer sollte dabei möglichst nahe an 100TCID₅₀ pro Delle sein. Der neutralisierende Antikörper-Titer wurde als reziproker Wert derjenigen Serum-Verdünnung ausgedrückt, bei welcher die Antikörper in 50 % der Dellen eine Infektion verhinderten (REED und MUENCH, 1938).

5.5.5. Hämatologische Untersuchungen

Die Untersuchungen erfolgten im Veterinärmedizinischen Labor der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich. Im EDTA-Blut wurden mittels des Hämatologieanalyzers Cell-Dyn 3500 (Abbott, Wiesbaden) die Parameter Hämatokrit, Hämoglobingehalt, Erythrozytenkonzentration, mittlere korpuskuläre Hämoglobinemenge (MCH), mittlere korpuskuläre Hämoglobin-Konzentration (MCHC), mittleres Zellvolumen (MCV), die Leukozytenkonzentration sowie ein Differentialblutbild bestimmt. Das Plasmaprotein und das Fibrinogen wurden refraktometrisch gemessen.

5.6. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programms StatView 5.1 (SAS Institut, Schweiz). Die Ergebnisse wurden als Mittelwerte und deren Standardabweichung angegeben. Zur Berechnung der signifikanten Unterschiede der einzelnen Parameter wurde eine Varianzanalyse mit wiederholten Messungen (ANOVA) durchgeführt. Zum Schluss wurde mit den klinischen und hämatologischen Daten eine zeitliche Synchronisation durchgeführt. Als Bezugspunkt für die Synchronisation wurde das letzte Serokonversionsdatum gewählt. Darauf beziehend konnten die Tage 27 bis 62 synchronisiert ausgewertet werden. Ein P-Wert von < 0.05 wurde als signifikant angesehen.

5.7. Zusammenarbeit mit anderen Instituten

Am Zustandekommen der vorliegenden Arbeit waren ausser der Klinik für Wiederkäuer der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich (Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun) die folgenden Institute und Abteilungen der Vetsuisse-Fakultäten Zürich und Bern beteiligt:

- Institut für Veterinär-Virologie der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern (Prof. Dr. E. Peterhans, Dr. C. Bachofen): Virologische und serologische Untersuchungen.
- Veterinärmedizinisches Labor der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich (Prof. Dr. H. Lutz): Hämatologische Untersuchungen.
- Abteilung für Ambulanz und Bestandesmedizin der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich (Prof. Dr. M. Hässig): Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

5.8. Tierversuchsbewilligung

Für die Versuche lag eine Tierversuchsbewilligung (Nr. 12/2007) des Kantonalen Veterinäramtes Zürich vor. Die Bewilligung war vom 17. Januar 2007 bis zum 16. Februar 2008 gültig.

6. ERGEBNISSE

6.1. Klinische Untersuchungen

6.1.1. Allgemeinzustand, Fresslust und Nährzustand

Der Allgemeinzustand war während der gesamten Untersuchungsdauer bei den Kälbern abhängig von den restlichen klinischen Symptomen ungestört bis mittelgradig gestört. Dies äusserte sich an den Tagen 5 und 6 bei einem Kalb (Nr. 4) in einer reduzierten Fresslust, Apathie und einer rektalen Temperatur von 40.5 beziehungsweise 41.0 °C und wurde als mittelgradig gestört bezeichnet. Am Tag 7 wurde bei einem Kalb (Nr. 5) ein leichtgradig reduzierter Allgemeinzustand mit einer rektalen Temperatur von 39.6 °C und vermehrtem Liegen bei erhaltener Fresslust beobachtet. Die Fresslust war während der Infektionsphase am Tag 5 bei einem Kalb (Nr. 4) und am Tag 6 bei 3 Kälbern (Nr. 3, 4, 7) reduziert. Bei den anderen Kälbern war sie während der gesamten Untersuchungszeit normal.

6.1.2. Rektale Temperatur

Während der Akklimatisationsphase lag die rektale Temperatur der Kälber zwischen 37.8 und 40.0 °C (39.0 ± 0.5 °C; Abb. 2) und während der Infektionsphase zwischen 36.9 und 41.0 °C (38.7 ± 0.5 °C; Abb. 3). Während der Akklimatisationsphase wiesen drei Kälber (Nr. 2, 4, 8) an den Tagen -29, -14 und -7 und während der Infektionsphase sechs Kälber (Nr. 3, 4, 5, 7, 8, 9) an den Tagen 1, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 15, 17, 44 und 45 rektale Temperaturen über 39.5 °C auf (Tab. 1).

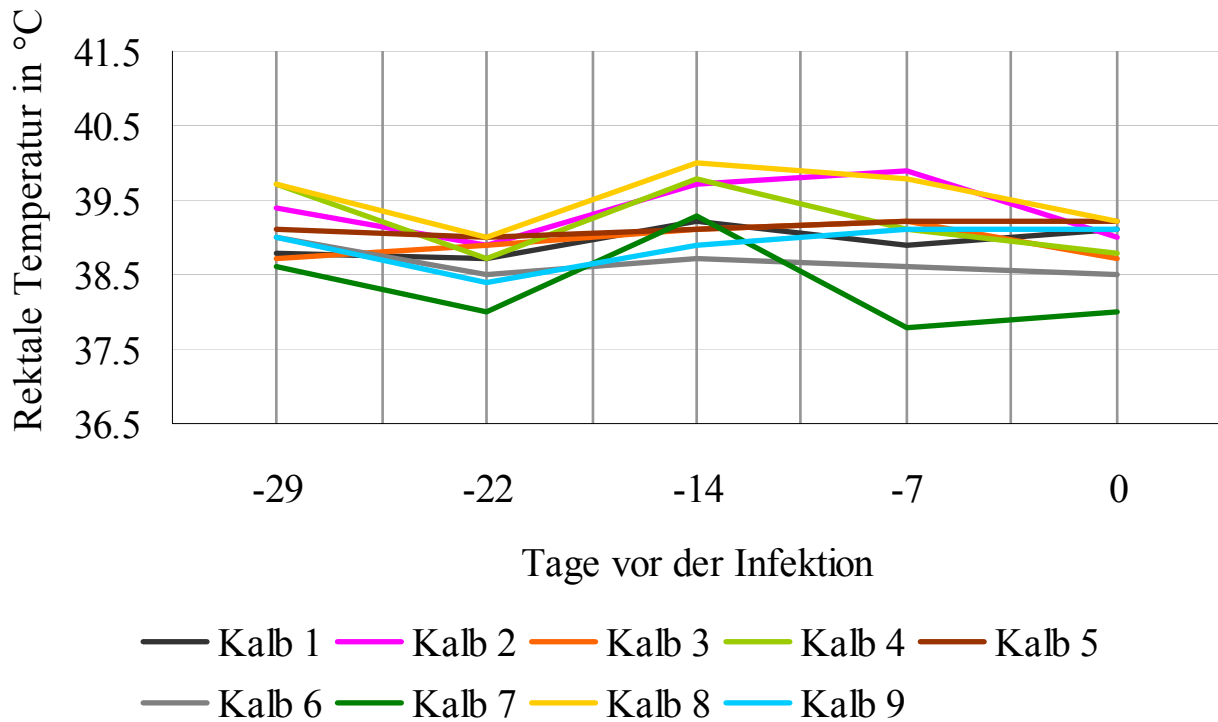


Abb. 2: Rektale Temperatur bei neun Kälbern während der Akklimatisationsphase

6.1.3. Herz- und Kreislaufsystem, Augenausfluss

Die Herzfrequenz lag während der gesamten Untersuchungszeit zwischen 48 und 100 Schlägen pro Minute (71.2 ± 7.7 Schlägen pro Minute). Die weitere Untersuchung des Herz- und Kreislaufsystems war bei allen Kälbern während der ganzen Zeit unauffällig. Die Skleralgefäße waren bei allen Tieren während der gesamten Untersuchungszeit leichtgradig injiziert. Nur am Tag 3 der Infektionsphase waren die Skleralgefäße beim Kalb 1 mittelgradig injiziert.

Zu Beginn der Akklimatisationsphase und während der ersten beiden Tage der Infektionsphase konnte bei keinem der Kälber Augenausfluss beobachtet werden. Am Ende der Akklimatisationsphase und ab dem Tag 3 der Infektionsphase zeigten alle Kälber mindestens zu einem Zeitpunkt serösen bis mukösen Augenausfluss.

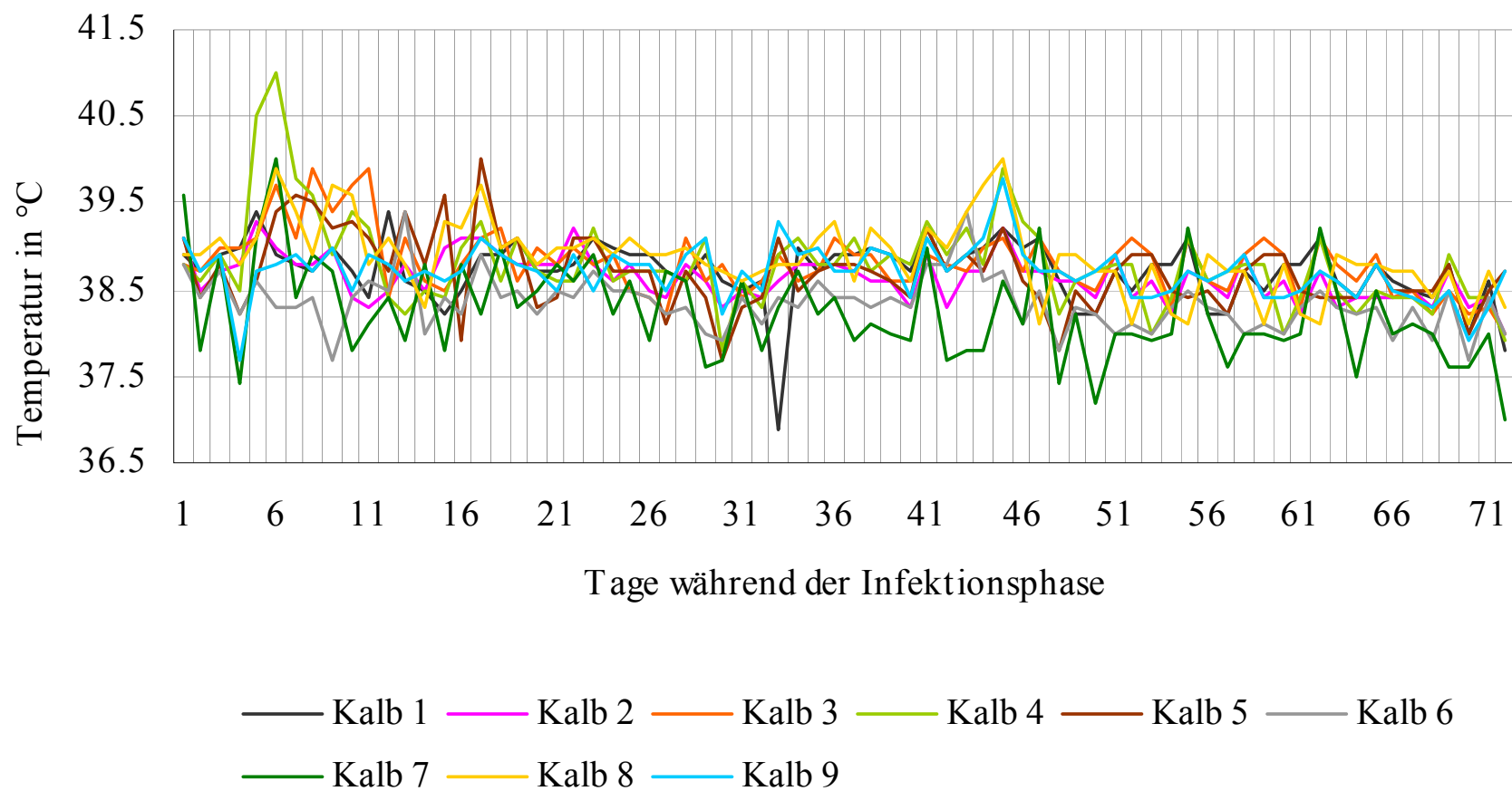


Abb. 3: Rektale Temperatur bei neun Kälbern während der Infektionsphase

Tab. 1: Übersicht über die Tage mit erhöhter Rektaltemperatur bei neun Kälbern während der Akklimatisations- und Infektionsphase.

Kalb	Tage vor und während der Infektionsphase																															
	-29	-22	-14	-7	0	1	5	6	7	8	9	10	11	12	13	15	16	17	18	22	23	33	36	38	41	43	44	45	46	47	55	62
1																																
2																																
3																																
4																																
5																																
6																																
7																																
8																																
9																																

Leere Felder: T < 39.2 °C

Hellgraue Felder: T 39.2 - 39.5 °C

Dunkelgraue Felder: T 39.6 - 40.0 °C

Schwarze Felder: T 40.1 - 41.0 °C

6.1.4. Atemapparat

Die Atemfrequenz lag während der gesamten Untersuchungszeit zwischen 12 und 56 Atemzügen pro Minute (26.1 ± 6.3 Atemzügen pro Minute). Der Atemtyp war stets kostoabdominal. Bei der Auskultation konnte bei allen Kälbern während der gesamten Untersuchungszeit maximal ein verstärktes Vesikuläratmen festgestellt werden. Alle Kälber wiesen sowohl in der Akklimatisations- als auch in der Infektionsphase an unterschiedlichen Tagen Nasenausfluss von seröser bis muköser Konsistenz und Husten auf.

6.1.5. Haut- und Hautanhangsorgane

Im Haarkleid haben sich abgesehen von einer Infektion mit *Trichophyton* spp., die alle Kälber betraf, keine speziellen Veränderungen gezeigt. An den Lymphknoten konnten während der gesamten Untersuchungszeit keine abnormen Befunde festgestellt werden.

Beim Kalb 8 wurden Veränderungen an den Klauen festgestellt. Sie zeigten sich an den Hinterklauen an den Tagen 26, 29, 30, 34, 35, 37, 38, 41 und 42 in Form von geröteter Haut im Zwischenklauenspalt und plantar des Kronrands bis über die Afterklauen.

6.1.6. Farbe und Veränderungen der Schleimhäute

Die Farbe der Schleimhaut war bei allen Tieren während der gesamten Untersuchungszeit blassrosa bis rosa. Zu Beginn der Akklimatisationsphase waren bei keinem Kalb Veränderungen an den Schleimhäuten festzustellen. Nach Umstellung von Milch- auf Rauhfutter waren am Ende der Akklimatisationsphase leichtgradige Maulschleimhautveränderungen in Form von kleinen, vereinzelt vorkommenden, schwachen, länglich bis ovalen Erosionen sichtbar. Diese länglichen, leichtgradigen Schleimhautverletzungen traten während der Infektionsphase noch vereinzelt auf, bildeten sich aber immer wieder zurück. Ab dem Tag 3 der Infektionsphase (Abb. 4, 5; Tab. 2) waren bei zwei Kälbern (Nr. 3, 7) erstmals vereinzelt punktförmige rötliche Verfärbungen bis feine Erosionen sichtbar, die ebenfalls als leichtgradige Veränderungen bezeichnet wurden. Später wurden diese Veränderungen auch bei den anderen Kälbern beobachtet. Diese Veränderungen befanden sich im Bereich des harten Gaumens, des Mundwinkels, der Schleimhäute der Ober- und Unterlippen und des inzisivalen Gingivaanteils. Die Erosionen bildeten sich entweder zurück oder es entwickelten sich mittelgradige Schleimhautveränderungen in Form von halbkreisförmigen, rauen, rötlich-braunen Erhabenheiten oder runden, weissen, rauen Erhabenheiten von 5 mm bis 3 cm Durchmesser mit einem roten Randsaum. Die

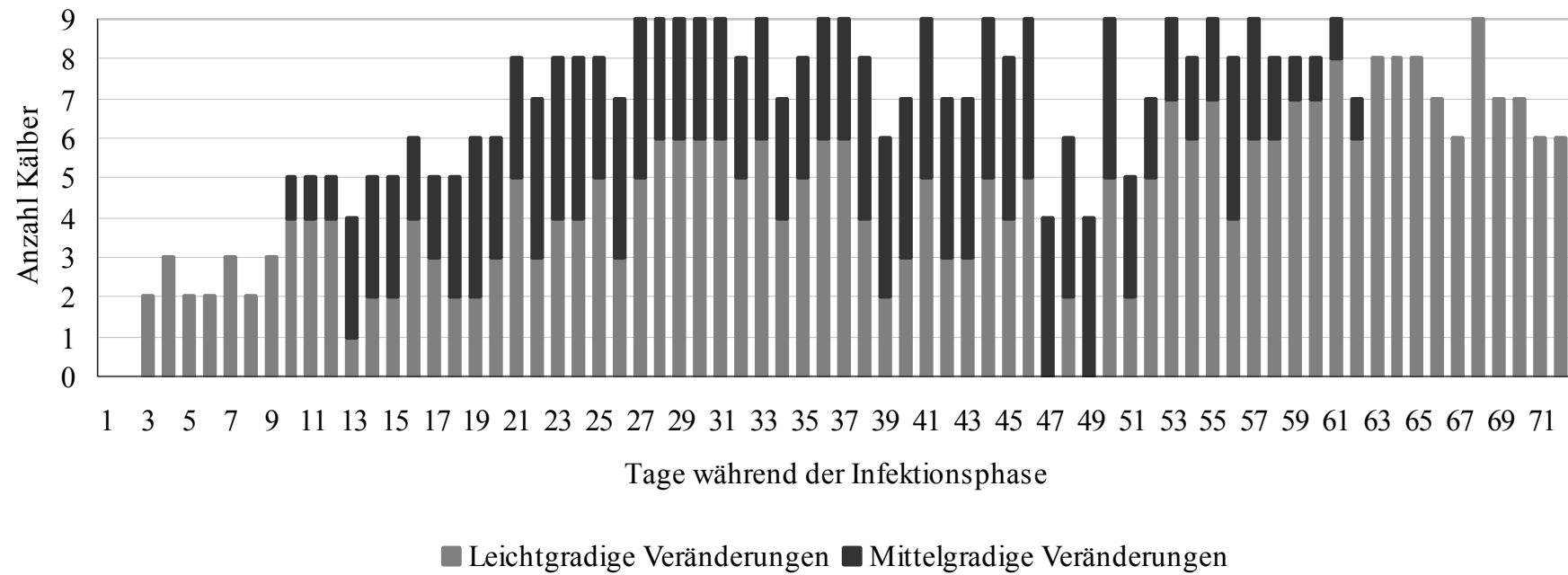


Abb. 4 : Anzahl Kälber mit leicht- und mittelgradigen Schleimhautveränderungen an den verschiedenen Tagen der Infektionsphase

Tab. 2: Leicht- und mittelgradige Schleimhautveränderungen bei neun Kälbern während der Infektionsphase (Tage 1 – 36)

Kalb	Tage nach Infektion																																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	
1																																					
2																																					
3																																					
4																																					
5																																					
6																																					
7																																					
8																																					
9																																					

Tab. 2, Fortsetzung: Leicht- und mittelgradige Schleimhautveränderungen bei neun Kälbern während der Infektionsphase (Tage 37 – 72)

Kalb	Tage nach Infektion																																				
	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	
1																																					
2																																					
3																																					
4																																					
5																																					
6																																					
7																																					
8																																					
9																																					

Leere Felder: keine Veränderungen

Hellgraue Felder: leichtgradige Schleimhautveränderungen

Dunkelgraue Felder: Mittelgradige Schleimhautveränderungen

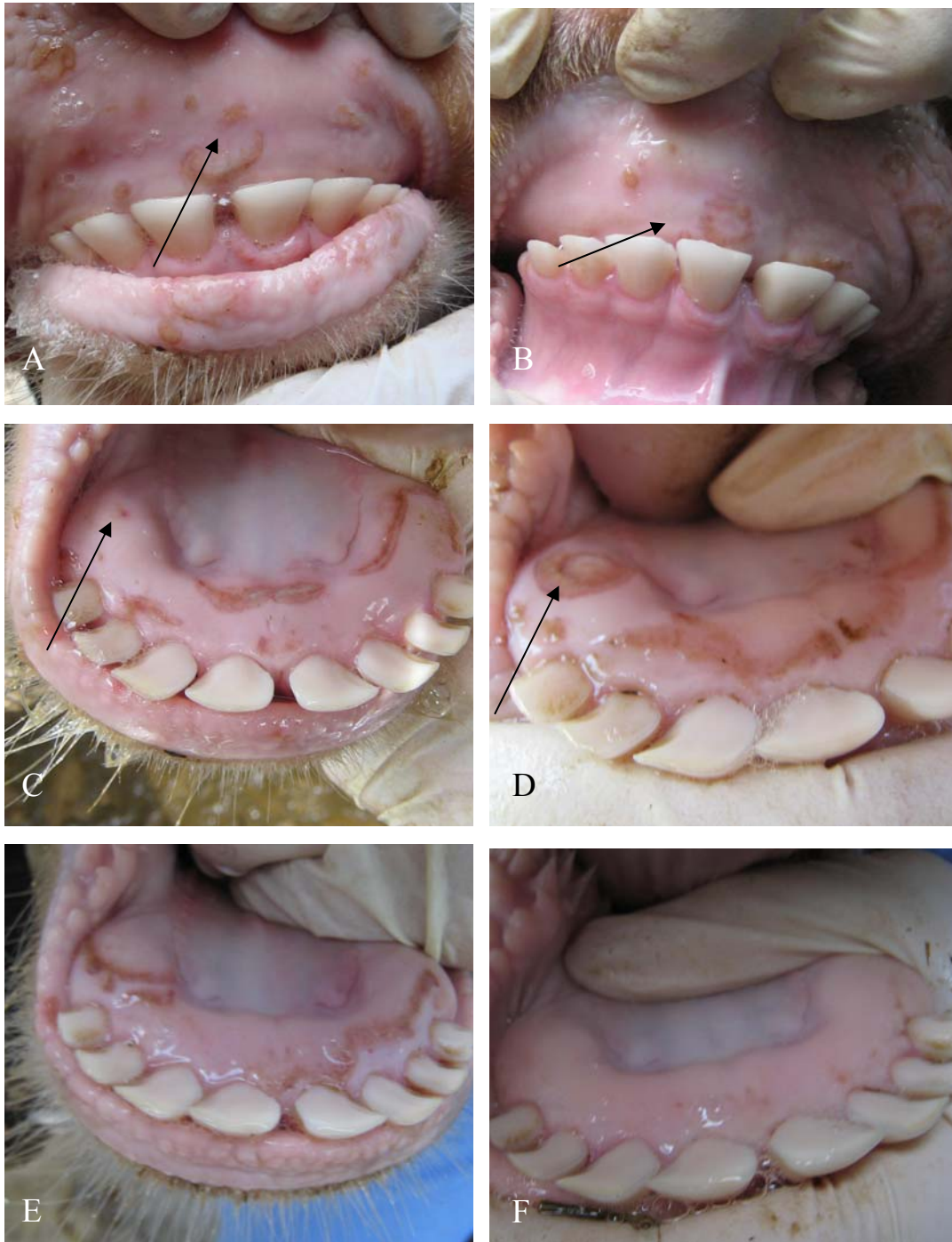


Abb. 5: Verlauf der erosiven Veränderungen an der Maulschleimhaut beim Kalb 3 an den Tagen 17 (A), 22 (B), 29 (C), 38 (D), 45 (E) und 58 (F). Entwicklung von punktförmigen feinen Erosionen zu rauen Erhabenheiten und deren Rückbildung

betroffenen Tiere zeigten Speicheln und oft waren gleichzeitig die Zahnfleischränder stark gerötet. Die Veränderungen begannen sich gegen Ende der Untersuchungen zurückzubilden.

6.1.7. Verdauungsapparat

Die Pansen- und Darmmotorik waren während der gesamten Untersuchungszeit bei allen Kälbern ungestört. Sowohl während der Akklimatisations- als auch während der Infektionsphase wiesen alle Kälber mindestens einmal Durchfall auf. Der Kot dieser Tiere war wässrig bis dünnbreiig. An den Tagen 10 und 14 waren bei je 2 Kälbern Kotbeimengungen in Form von Schleim vorhanden.

6.2. Labordiagnostische Untersuchungen

6.2.1. Hämatologie

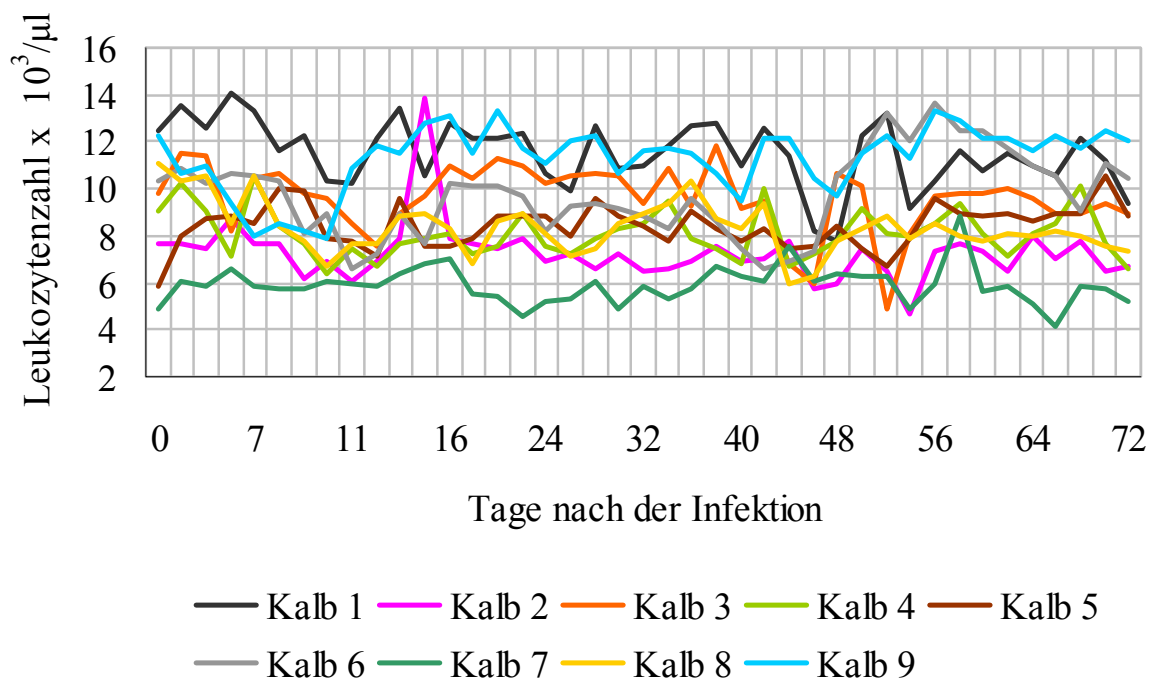


Abb. 6: Verlauf der Gesamtleukozytenzahl bei neun Kälbern während der Infektionsphase

Die Gesamtleukozytenkonzentration der Kälber lag zwischen 4.1 und $14.1 \times 10^3/\mu\text{l}$ ($8.9 \pm 2.2 \times 10^3/\mu\text{l}$; Abb. 6, Tab. 3). Sechs Kälber (Nr. 1, 3, 4, 6, 8, 9) wiesen am Tag 0 eine Leukozytose, d. h. eine Gesamtleukozytenkonzentration von über $8.8 \times 10^3/\mu\text{l}$ Blut, auf. Während der gesamten Infektionsphase trat bei keinem Kalb eine Leukopenie auf.

Tab. 3: Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen bei neun Kälbern im Verlauf der Infektionsphase

	Parameter	Mittelwert \pm Standardabweichung (Minimum – Maximum)
Rotes Blutbild	Hämatokrit [%]	27.5 ± 3.6 (16 – 37)
	Hämoglobin [g/dl]	9.7 ± 1.2 (5.9 – 12.8)
	Erythrozyten [$\times 10^6/\mu\text{l}$]	8.1 ± 1.2 (4.2 – 11.1)
	MCH [pg]	12.3 ± 1 (10 – 17)
	MCHC [g/dl]	35.5 ± 1.64 (31 – 41)
	MCV [fl]	34.4 ± 3.1 (28 – 47)
Weisses Blutbild [$\times 10^3/\mu\text{l}$]	Gesamtleukozyten-konzentration	8.9 ± 2.2 (3.7 – 14.1)
	Lymphozyten	66.6 ± 8.73 (26 – 91)
	Neutrophile Granulozyten	2.6 ± 1.3 (0.5 – 7.8)
	Eosinophile Granulozyten	0.15 ± 0.12 (0.03 – 0.6)
	Basophile Granulozyten	0.09 ± 0.06 (0.02- 0.3)
	Monozyten	0.3 ± 0.2 (0.3 – 1.4)

6.2.2. Virusnachweis

In den Blut- und Nasentupferproben konnte während der gesamten Untersuchungszeit keine pestivirale RNA nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte in den Blutproben aller neun Kälber kein ovines Herpesvirus Typ 2 nachgewiesen werden.

6.2.3. Antikörpernachweis mittels ELISA

Bis zum Tag 28 der Infektionsphase waren in Bezug auf Pestiviren alle Kälber seronegativ. Zwischen den Tagen 36 und 72 kam es bei sechs von neun Kälbern zur Serokonversion (Abb. 7). Die Serokonversion trat an den Tagen 36 (Kalb 7),

46 (Kalb 8), 50 (Kälber 3 und 9), 58 (Kalb 2) und 62 (Kalb 1) der Infektionsphase auf.

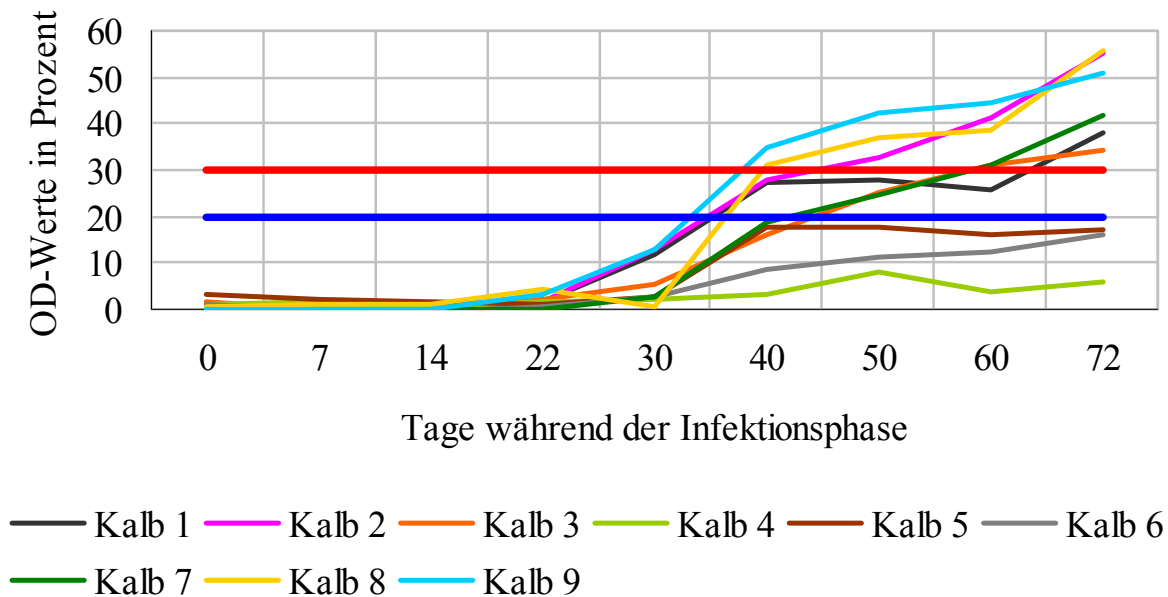


Abb. 7: Verlauf der OD-Werte bei neun Kälbern während der Infektionsphase von 72 Tagen. OD-Werte über 20 % werden als verdächtig (horizontale blaue Linie), solche über 30 % als positiv (horizontale rote Linie) beurteilt

6.2.4. Serumneutralisationstest (SNT)

Am Tag 0 wiesen die Kälber keine neutralisierenden Antikörper gegen das Border-Disease-Virus und das BVD-Virus auf. Vier Kälber (Nr. 3 bis 6) zeigten jedoch eine geringgradige unspezifische Inhibition gegen das Border-Disease-Virus und drei Kälber (Nr. 3 bis 6) eine solche gegen das BVD-Virus (Tab. 4). Am Tag 72 (Tab. 4; Abb. 8) der Infektionsphase wiesen alle Kälber hohe neutralisierende Antikörpertiter gegen das Border-Disease-Virus und sehr geringe Titer gegen das BVD-Virus auf.

Tab. 4: Antikörpertiter (SNT) gegen BDV und BVDV der neun Kälber an den Tagen 0 und 72 der Infektionsphase

Kalb	Tag 0		Tag 72	
	BDV	BVDV	BDV	BVDV
1	4.0	4.00	2280	29.3
2	4.0	4.00	3440	90.5
3	18.0	6.73	2640	82.3
4	38.0	28.70	460	26.0
5	26.0	20.60	1260	26.9
6	7.1	4.00	1270	24.0
7	4.0	4.00	2050	26.9
8	4.0	4.00	2540	90.1
9	4.0	4.00	2920	54.1

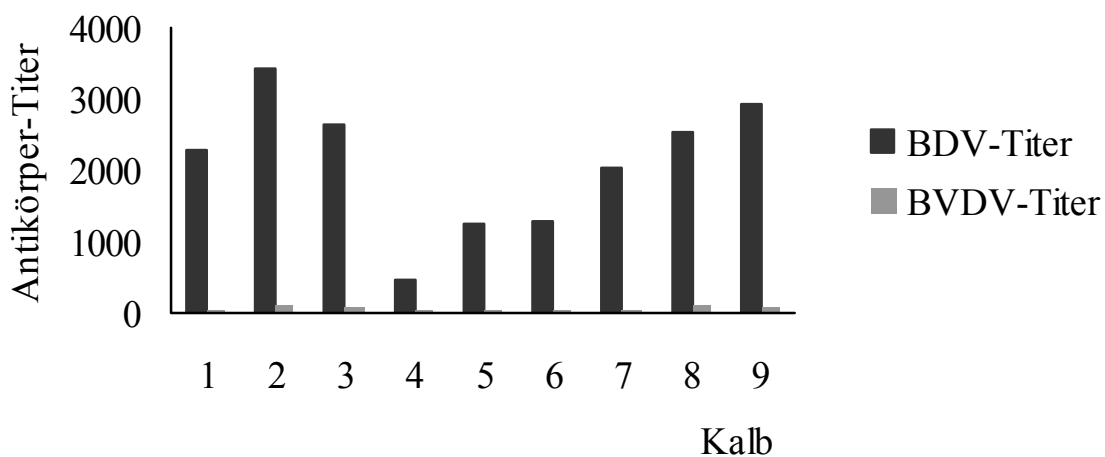


Abb. 8: Antikörper-Titer (SNT) gegen BDV und BVDV der Kälber 1 bis 9 am Tag 72 der Infektionsphase

6.3. Beziehung zwischen der Serokonversion und den klinischen und hämatologischen Befunden

Zwischen dem Datum der Serokonversion und den klinischen und hämatologischen Befunden bestand keine signifikante Beziehung.

7. DISKUSSION

Das Ziel der Untersuchung war es, abzuklären, ob das Border-Disease-Virus bei engem Kontakt von persistent mit dem Border-Disease-Virus infizierten Lämmern auf seronegative Kälber übertragen werden kann und ob diese serokonvertieren. Gleichzeitig sollte untersucht werden, ob es nach einer allfälligen Infektion zu klinisch abnormen Befunden und hämatologischen Veränderungen kommt.

7.1. Klinische Befunde

An den Tagen 5 und 6 der Infektionsphase fielen bei einem Kalb bzw. bei drei Kälbern eine reduzierte Fresslust auf. Da die Fresslust während der Akklimatisationsphase nie gestört war und bei akuten BVDV-Infektionen vorübergehend verminderte Fresslust beobachtet wurde (BROWNLIE, 1991), ist es möglich, dass dies mit einer vorhandenen Infektion zusammenhing.

Während der Infektionsphase wiesen sechs Kälber rektale Temperaturen über 39.5 °C auf. Fieber wurde bei Schafen von THABTI et al. (2002) drei bis sechs Tage nach Infektion mit dem Border-Disease-Virus beobachtet und von NETTLETON et al. (1998) als typisches Symptom der Virämiephase bezeichnet. Da aber zwei dieser Kälber auch während der Akklimatisationsphase schon rektale Temperaturen über 39.5 °C aufwiesen, ist der Temperaturanstieg mit Vorsicht zu interpretieren und könnte auch durch eine virale Infektion der Atemwege bedingt gewesen sein, dies umso mehr, als immer wieder Kälber mit Nasenausfluss beobachtet wurden.

An neun Tagen (Tag 26, 29, 30, 34, 35, 37, 38, 41, 42) der Infektionsphase konnten bei einem Kalb (Nr. 8) Klauenveränderungen in Form von Rötungen beobachtet werden. Weil solche Veränderungen in der Akklimatisationsphase bei keinem Kalb beobachtet wurden und das Kalb 8 zu den Tieren gehört, bei denen

eine Serokonversion stattfand, ist es möglich, dass diese Veränderungen mit einer Infektion in Zusammenhang stehen.

Am Ende der Akklimatisationsphase waren bei drei Kälbern leichtgradige Maulschleimhautveränderungen vorhanden, dabei handelte es sich ausschliesslich um geringgradige Verletzungen der Schleimhaut durch Umstellung von Milch auf Rauhfutter. Die zu einem späteren Zeitpunkt der Infektionsphase aufgetretenen Erosionen und Ulzerationen konnten auch am letzten Tag der Akklimatisationsphase nicht beobachtet werden. Da sich das Pestivirus zuerst in der oronasalen Mukosa vermehrt (BROWNLIE, 1991) und die auffallenden Veränderungen erst in der Infektionsphase auftraten, ist zu vermuten, dass diese durch das Border-Disease-Virus verursacht wurden. Auch die Ergebnisse von REICHERT (2009) sprechen für virusbedingte Schleimhautveränderungen, da nach einer künstlichen Infektion mit dem Border-Disease-Virus bei sechs von sieben Kälbern und bei vier von acht Schafen ähnliche Veränderungen der Maulschleimhaut beobachtet wurden.

Aufgrund der klinischen Befunde konnte kein Rückschluss auf den genauen Infektionszeitpunkt gezogen kann. Dies könnte damit zusammenhängen, dass bei mit Border-Disease-Virus transient infizierten, gesunden Jungtieren und erwachsenen Schafen bis anhin nur geringe oder keine Krankheitssymptome (NETTLETON et al., 1998; THABTI et al., 2002; BRAUN et al., 2004) beobachtet wurden. Jedoch ist ein genauer Rückschluss auf den genauen Infektionszeitpunkt aufgrund der vorhandenen Virusdosis und der Expositionsdauer ohnehin schwierig (PETERHANS, 2009, persönliche Mitteilung)

7.2. Labordiagnostische Untersuchungen

7.2.1. Hämatologische Befunde

Im Verlauf der Infektionsphase kam es zu keinem Absinken der Leukozytenzahl, wie sie bei einer akuten BVD- (RADOSTITS und LITTLEJOHNS, 1988; CARLSSON et al., 1989; BOLIN und RIDPATH, 1995; ELLIS et al., 1998) und

BD-Erkrankung (NETTLETON et al., 1998, THABTI et al., 2002) auftreten kann. Bei natürlich mit BVDV infizierten Kälbern konnte eine signifikante Reduktion der Leukozytenkonzentration mit einer Lymphopenie 4 Tage nach der Infektion (TRAVEN et al., 1991) und bei experimentell infizierten Kälbern 7 bis 8 Tage nach der Infektion beobachtet werden (ELLIS et al., 1998). Auch experimentell mit dem BVD-Virus infizierte Lämmer zeigten eine deutliche Leukopenie mit einer Lymphopenie (LAMONTAGNE et al., 1989). Leukozytenreaktionen sind bei Wiederkäuern allerdings selten spezifisch für spezielle Krankheitsbilder; sie geben aber eine gewisse Richtungstendenz an und sind unterstützend für die Diagnostik (WEISS und PERMAN, 1992). Bei Stress kann es zu einem Anstieg der Lymphozyten- und Monozytenkonzentrationen kommen (JACOBS et al., 1981). Die genaue Pathogenese der hämatologischen Veränderungen bei BVDV-Infektionen ist bisher nicht genau bekannt (TAYLOR, 2000). Bei sechs Parametern (Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration, Lymphozytenzahl, Plasmaproteine, relative Zahl der segmentkernigen Neutrophilen und absolute und relative Zahl der Monozyten) konnten zwar im Verlauf der Untersuchungen signifikante Schwankungen aufgezeigt werden. Aber da im Rahmen der Betrachtung der hämatologischen Untersuchungsergebnisse keine typischen Hinweise auf eine erfolgreich stattgefundenen, virale Infektion bestanden und weil anhand der hämatologischen Befunde kein Rückschluss auf den genauen Infektionszeitpunkt gezogen werden konnte, können die oben genannten Parameter vernachlässigt werden. RADOSTITS und LITTLEJOHNS (1988) konnten bei akuten BVD-Infektionen auch unveränderte hämatologische Blutwerte beobachten. GUNN (1993) begründete ausbleibende hämatologische Veränderungen mit der Tatsache, dass bei immunkompetenten Tieren transiente Infektionen mit Pestiviren ohne hämatologische Symptome verlaufen können. Auch von REICHERT (2009) waren nach experimenteller Infektion von Kälbern mit Border-Disease-Virus keine hämatologischen Veränderungen beobachtet worden.

7.2.1. Nachweis von viraler RNA

Es konnte weder in den Blut- noch in den Nasentupferproben virale RNA nachgewiesen werden. Über die Dauer einer Virämiephase bei Rindern nach Infektion mit dem Border-Disease-Virus existieren keine Untersuchungen. Nach NETTLETON et al. (1998) trat die Virämiephase bei transient mit dem Border-Disease-Virus infizierten Schafen 4 bis 11 Tage nach der Infektion auf. Die Dauer der Virämie lag nach experimenteller Infektion mit dem Border-Disease-Virus bei Schafen zwischen 1 und 10 Tagen (GARCÍA-PÉREZ et al., 2008). Bei Pestiviren ist bekannt, dass die Virämiephase bei einer transienten Infektion meistens sehr kurz und schwach verläuft, so dass ein Nachweis praktisch unmöglich ist (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2008). So konnte in einem Infektionsversuch von Kälbern mit dem Border-Disease-Virus in keinem Fall aus den Blutproben pestivirale RNA isoliert werden (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2008), obwohl alle Kälber serokonvertierten. In der vorliegenden Untersuchung kommt erschwerend dazu, dass die Infektion dem Zufall überlassen wurde und so der genaue Infektionszeitpunkt nicht bekannt war. Falsch negative Resultate können mit grosser Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, da die RT-PCR eine äusserst sensitive Untersuchungsmethode darstellt (WILLOUGHBY et al., 2006; GARCÍA-PÉREZ et al., 2008). BOLIN und RIDPATH (1992) beschrieben unterschiedliche Virulenzen zweier BVDV-Isolate. Sie stellten nach experimenteller Infektion von Kälbern mit zwei unterschiedlichen BVD-Virusstämmen unterschiedlich hohe Virustiter im Blut fest. Eine zu geringe Infektiosität der in dieser Arbeit vorliegenden Viren kann ausgeschlossen werden, da während der Infektionsphase von 72 Tagen sechs der neun Kälber serokonvertierten und das CH-BD4-Virus von REICHERT (2009) sowohl in den Blut- als auch in den Nasentupferproben nachgewiesen wurde. Doch könnten Infektionen mit dem Border-Disease-Virus unter natürlichen Bedingungen (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2008) zu einer zu geringen Virustiter im Blut führen und so einen Virusnachweis stark erschweren. NETTLETON et al.

(1992) beschrieben, wie bei einem 4-jährigen persistent infizierten Schaf die Virämie im Alter von drei bis vier Jahren abnahm und schliesslich mit 4 Jahren nicht mehr nachweisbar war. Da aber die beiden verwendeten, persistent mit dem Border-Disease-Virus infizierten Lämmer erst 1-jährig waren, scheint eine Abnahme der Virämie unwahrscheinlich. Es ist bekannt, dass persistent infizierte Tiere in allen Körperexkreten und -sekreten infektiöses Virus ausscheiden (BARLOW et al., 1986; NETTLETON und ENTRICAN, 1995; MARS et al., 1999), wobei der Nasenausfluss und der Speichel die potentesten Quellen darstellen (NETTLETON und ENTRICAN, 1993). Bei akuten BVD-Infektionen ist bekannt, dass es zu kurzen Perioden der Virusstreuung kommen kann (BOLIN und RIDPATH, 1992). In der Dissertation von REICHERT (2009) wurde nach der Infektion mit einem Border-Disease-Virus (CH-BD4) bei einem Kalb, bei zwei Ziegen und einem Schaf einmalig pestivirale RNA in den Nasentupferproben nachgewiesen. Die exakte Zeitdauer einer Virusausscheidung über Nasensekret wurde bisher nicht beschrieben.

7.2.3. Antikörpernachweis

Die Unterschiede der einzelnen Kälber in Bezug auf die Zeit bis zur Serokonversion können mit einem unterschiedlichen Infektionsdruck bei Gruppenhaltung erklärt werden oder damit, dass einzelne Tiere für das Border-Disease-Virus nicht (BRAUN et al., 2004) beziehungsweise weniger empfänglich waren. THABTI et al. (2002) vermuteten eine gewisse Rassenempfindlichkeit in Bezug auf die Border-Disease-Erkrankung bei Schafen. Von den hier verwendeten neun Kälbern gehörten drei der Rasse Fleckvieh und zwei der Rasse Holstein Friesian an. Von diesen beiden Rassen haben alle Tiere serokonvertiert. Hingegen hatte von den vier Braunviehkälbern nur eines serokonvertiert. Ein Zusammenhang von Rasse und Erkrankungsanfälligkeit wurde in anderen Studien nicht beobachtet (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2008; REICHERT, 2009). Eventuell trug auch der Charakter der einzelnen Tiere dazu bei, dass die

schüchternen Kälber weniger den Kontakt zu den Schafen suchten. Es wurde nämlich beobachtet, dass sich die Fleckviehkälber häufiger in der Nähe der beiden Schafe aufhielten, während sich die Braunviehkälber meist am anderen Ende des Laufstalls befanden. Demzufolge hätten diese praktisch keinen direkten Nasen-zu-Nasen-Kontakt gehabt und wären daher weniger mit dem Speichel und Nasenausfluss, den potentesten Virusquellen (NETTLETON und ENTRICAN, 1995), der beiden Schafe in Kontakt gekommen. Eine fehlende Serokonversion kann, analog wie von BOLIN und RIDPATH (1992) für unterschiedliche serologische Reaktionen in Abhängigkeit von der Virulenz von BVDV beschrieben, mit einer zu geringen Virulenz der ausgeschiedenen Border-Disease-Viren erklärt werden.

Üblicherweise wurde bei akuten BVDV-Infektionen innerhalb von 2 bis 3 Wochen die Produktion von neutralisierenden Antikörpern beobachtet (BROWNLIE et al., 1987; MÖNNIG und PLAGEMANN, 1992; FREDRIKSEN et al., 1999). Bei Infektionen von Schafen mit dem Border-Disease-Virus sind die Angaben sehr unterschiedlich. Eine Produktion von neutralisierenden Antikörpern fand nach 11 bis 14 Tagen (NETTLETON et al., 1998), 14 Tagen bis 10 Monaten (BARLOW et al., 1980), 16 bis 21 Tagen (THABTI et al., 2002), 30 bis 40 Tagen (GARCÍA-PÉREZ et al., 2008) und 60 bis 126 Tagen (BRAUN et al., 2004) statt. Interessant war, dass bei einem Lamm nach 145 Tagen, nach erfolgter Serokonversion, Border-Disease-Virus im Blut festgestellt werden konnte (BRAUN et al., 2004). Dies kam wahrscheinlich durch eine transiente Infektion zustande. Obwohl akut infizierte Kälber für kurze Zeit Virus ausscheiden können (BOLIN und RIDPATH, 1992), sind solche Tiere schlechte Überträger des Virus (NISKANEN et al., 2000). Daher kann eine Weiterverbreitung des Virus innerhalb der Kälbergruppe praktisch ausgeschlossen werden. Auffallend bei dieser Studie ist der zu Beginn langsame Anstieg des Antikörpertiters. Ähnliches wurde auch von BROWNLIE (1990) beschrieben. Nach akuten BVDV-Infektionen immunkompetenter Tiere wurden

langsame Antikörperreaktion von über 10 bis 12 Wochen beobachtet (BROWNLIE, 1990). Der langsame Antikörperanstieg könnte auch mit dem vor der Infektionsphase festgestellten, in Material und Methodik beschriebenen, intermittierenden Ausscheiden des infektiösen Virus aus dem Nasensekret des Schafs 1 in Zusammenhang stehen. Die von uns ermittelte Serokonversionsrate von 66.7 % (6 von 9 Kälbern) ist ähnlich wie die in Untersuchungen von persistent mit dem BVD-Virus infizierten Kälbern. FULTON et al. (2005) zeigten, dass 83.2 % von 202 Tieren serokonvertierten, nachdem sie persistent mit dem BVD-Virus infizierten Kälbern exponiert waren. In einer Feldstudie war eine Rinderherde von 19 Tieren einem persistent mit dem BVD-Virus infizierten Kalb ausgesetzt, wonach 68.4 % der Tiere serokonvertierten (FULTON et al., 2002). Bei Infektionen mit dem Border-Disease-Virus sind die Resultate sehr unterschiedlich. In einer Untersuchung mit 8 Lämmern, die mit einem persistent mit Border-Disease-Virus infizierten Lamm zusammengehalten wurden, kam es bei 6 Tieren (75 %) zur Serokonversion (BRAUN et al., 2004). In der Dissertation von REICHERT (2009) wurden nach einer Infektionsphase von 70 Tagen bei vier von sechs Ziegen und bei zwei von acht Schafen, jedoch bei keinem Kalb, Antikörper nachgewiesen. KRAMETTER-FRÖTSCHER et al. (2008) hielten vier seronegative Kälber gemeinsam mit sechs pi-Schafen. Alle Kälber serokonvertierten. Nach intramuskulärer oder intrazerebraler Injektion von Ziegenlämmern kam es bei allen Tieren innerhalb von drei bis vier Wochen zur Serokonversion (LØKEN, 1990).

7.2.4. Serumneutralisationstest

Am Tag 0 wurden bei vier Kälbern (Nr. 3 bis 6) eine leichte Inhibition des BDV-Wachstums und bei drei Kälbern (Nr. 3 bis 5) eine ebenfalls schwache Wachstumshemmung des BVDV verzeichnet. Die gleichzeitige serologische Untersuchung der gleichen Proben mit dem ELISA ergab OD-Werte im negativen Bereich. Das Gleiche wurde von REICHERT (2009) beobachtet. Die Be-

funde sprechen für unspezifische Inhibitionen. Der Untersuchungszeitpunkt am Tag 0, vor Beginn der Infektionsphase, untermauert diese Annahme, zumal die Blutprobenentnahme vor jeglichem Kontakt zu virusausscheidenden Tieren stattgefunden hat.

Am Tag 72 der Infektionsphase wurde das Wachstum des Border-Disease-Virus im Serum aller neun Kälber gehemmt. Gleichzeitig wurde auch das BVD-Virus am Wachstum gehindert. Die Titer gegen das Border-Disease-Virus waren jedoch fünfzigmal höher als diejenigen gegen das BVD-Virus. Dies zeigt, dass eine spezifische Inhibition durch BD-Antikörper vorlag. Die geringe Neutralisationspotenz gegen das BVD-Virus resultierte aus einer gewissen Kreuzneutralisationspotenz innerhalb des Genus Pestivirus. Induzierte, spezifische Antikörper neutralisieren das Border-Disease-Virus bis zu hundertfach stärker als das BVD-Virus (BECHER et al., 2003; REICHERT, 2009). Da sich im Serumsneutralisationstest eindeutig zeigte, dass die Antikörper gegen das Border-Disease-Virus und nicht gegen das BVD-Virus gerichtet waren, kann der Schluss gezogen werden, dass die neun Kälber eine Infektion mit dem Border-Disease-Virus durchgemacht haben müssen.

7.3. Beziehung zwischen der Serokonversion und den klinischen und hämatologischen Befunden

Trotz zahlreicher klinischer und hämatologischer Daten konnte kein Rückschluss auf den genauen Infektionszeitpunkt gezogen werden. Erschwerend kommt dazu, dass beim BVD-Virus in Abhängigkeit von der Virulenz des Virus eine Variabilität in der Manifestation klinischer und hämatologischer Symptome auftritt (BOLIN und RIDPATH, 1992; RIDPATH et al., 2007). Als Ursache für die Variabilität der Manifestation klinischer Symptome wurden Unterschiede in der Pathogenität von BDV-Stämmen sowie unterschiedliche Infektionsrouten aufgeführt (SAWYER, 1992). Von den Border-Disease-Viren, die von den beiden persistent infizierten Schafen ausgeschieden wurden, liegen bisher noch

keine (CH-BD3-Virus) bzw. erst wenige (CH-BD4-Virus; REICHERT, 2009) Erkenntnisse bezüglich ihres Infektionsverhaltens vor. Aufgrund der grossen Heterogenität der Border-Disease-Viren (Abb. 1) ist es somit möglich, dass diese Viren (CH-BD-3-Virus, CH-BD-4-Virus) eine zu geringe Virulenz aufwiesen, in einer zu geringen Dosis vorlagen oder die Expositionsdauer zu kurz war, um manifeste Befunde auslösen zu können.

7.4. Schlussfolgerung

Die Ergebnisse zeigen, dass Border-Disease-Virus-infizierte Schafe in Zukunft in der Schweiz durchaus ein Problem darstellen können, vor allem auch im Hinblick auf die BVD-Ausrottung. Bis heute ist zwar Border Disease beim Rind in der Schweiz noch nicht beschrieben worden; doch die Ergebnisse dieser Untersuchung wie auch Fallberichte (CRANWELL et al., 2007; KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2008) lassen darauf schliessen, dass mit dem Border-Disease-Virus infizierte Lämmer, wie dies schon früher beschrieben wurde (BARLOW et al., 1980), eine Quelle für die Infektion von Rindern darstellen können. Falls das BVDV-Eradikationsprogramm erfolgreich verlaufen wird, werden Rinderherden sowohl frei von BVD-Antigen als auch von BVD-Antikörpern sein. Solche Tiere weisen ein hohes Risiko für eine erneute Infektion auf, wenn sie in Kontakt mit Border-Disease-Virus infizierten Schafen kommen (KRAMETTER-FRÖTSCHER, 2008). Zusätzlich stellen auch mit BVDV persistent-infizierte Schafe eine mögliche Quelle für eine Pestivirusinfektion beim Rind dar, wie das ebenfalls schon beschrieben wurde (CARLSSON, 1991; CARLSSON und BELÁK, 1994; PATON et al., 1995). Dem BVD-Virus wird innerhalb der Schafpopulation sogar eine grössere epidemiologische Bedeutung zugemessen als dem Border-Disease-Virus (SCHLEINER et al., 2006). Der hohe Anteil von Schafen und Schafherden mit Antikörperträgern in Beständen mit ausschliesslich Kontakt zu Artgenossen lässt allerdings den Schluss zu, dass ein vom Rind unabhängiges Infektionsgeschehen vorkommen muss (KRAMET-

TER-FRÖTSCHER et al., 2006; SCHLEINER et al., 2006). Im Gegensatz zu BVD überleben die persistent mit dem Border-Disease-Virus infizierten Tiere viel seltener. Bei Schafen sind bis anhin nur pi-Tiere beschrieben worden, die ein maximales Alter von bis zu 5 Jahren erreicht haben (NETTLETON et al. 1992; MARCO et al., 2008). Folglich scheint aus Sicht der genannten Autoren die Gefahr der Bildung von pi-Infektionsketten bei Schafen geringer zu sein als bei Rindern. Jedoch könnte aufgrund geringer klinischer Symptome eine höhere Prävalenz als angenommen vorliegen.

Eine besondere Gefahr wurde auch darin gesehen, dass viele moderne Diagnostikmethoden zu spezifisch sind, um bei den üblichen Routineuntersuchungen des Ausrottungsprogrammes neben dem BVD-Virus auch das Border-Disease-Virus erkennen zu können (CRANWELL et al., 2007). Diese Gefahr besteht allerdings in der Schweiz kaum, da Routinediagnostika (rRT-PCR, ELISA, Immunhistochemie) auch das Border-Disease-Virus erkennen. Zusätzlich erschwerend bei der Diagnostik des Border-Disease-Virus bei Schafen kommt jedoch hinzu, dass einige Lämmer als persistent infizierte Tiere geboren werden können, ohne jegliche klinische Symptome aufzuweisen (BONNIWELL et al., 1987).

Für die Schweiz ist es von grosser Bedeutung, dass Schafe und Rinder oft gemeinsam gehalten werden und die Alpung während der Sommermonate ein zusätzliches Infektionsrisiko darstellt. Bei BVD konnte während der Alpung ein deutlicher Anstieg der Seroprävalenz gegen das BVD-Virus bei Rindern von 63 auf 80 % gezeigt werden (BRAUN et al., 1998). Beim Schaf führt die herkömmliche Alpung zu einer massiven Verbreitung von Pestiviren (KRAMETTER-FRÖTSCHER et al., 2007). So stieg die Seroprävalenz gegen das Border-Disease-Virus von 67.6 auf 83 %. Es sollte deshalb auch die Tatsache beachtet werden, dass die für die Eradikation verwendeten Diagnostika nicht zwischen BVD- und BDV-Antikörpern unterscheiden können. Somit kann sich ein Problem ergeben, wenn zum Beispiel nach einer Alpung Rinder wegen persistent mit dem Border-Disease-Virus infizierten Schafen serokonvertieren. Denn in der

Überwachungsphase wird bei Betrieben mit Antikörper positiven Rindern die Anwesenheit eines persistent infizierten Rindes erwartet. Die Möglichkeit einer Infektion mit pi-Schafen sollte deshalb bei einer Serokonversion unbekannter Ursache oder bei in einem Betrieb stets hochbleibendem Antikörpertiter unbedingt in Betracht gezogen werden.

Zusätzlich sollte auch der Bedeutung der Wildwiederkäuer auf den gemeinsamen Weiden während der Alpung eine besondere Beachtung geschenkt werden. KRAMETTER et al. (2004) konnten zwar nur eine geringe Prävalenz von Antikörperträgern gegen Pestiviren bei den Wildwiederkäuern eruieren, trotzdem wird immer wieder von Virusisolationen bei Hirschen und anderen Wildwiederkäuern berichtet (NETTLETON, 1990; BECHER et al., 2003; VILČEK und NETTLETON, 2006). Obwohl die Übertragung von Pestiviren von domestizierten zu wildlebenden Wiederkäuern problematischer zu sein scheint als in umgekehrter Richtung (BECHER et al., 1997), kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass diese keine Infektionsquelle für domestizierte Wiederkäuer darstellen.

Weitere Untersuchungen zu den erwähnten Problemen und Risiken sind in Zukunft sicherlich angezeigt, um kosten- und zeitintensive Rückschläge in der Ausrottung des BVD-Virus möglichst zu vermeiden. Deshalb und auch zum Schutz des aufwändigen Eradikationsprogrammes sind weitere Untersuchungen angezeigt, insbesondere darüber, ob das Border-Disease-Virus auch unter Feldbedingungen auf das Rind übertragen werden kann.

8. LITERATURVERZEICHNIS

ADLER, H., B. FRECH, P. MEIER, T. W. JUNGI and E. PETERHANS (1994): Noncytopathic strains of bovine viral diarrhea virus prime bovine bone marrow-derived macrophages for enhanced generation of nitric oxide. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 202, 1562-1568.

ARQUINT, A. (2003): Immunhistologische Untersuchungen an Hautbiopsien bei akuter BVD (Bovine Virus Diarrhoe). Dissertation, Universität Zürich.

BACHOFEN, C., H. VOGT, H. STALDER, M. HILBE, P. TSCHUDI und E. PETERHANS (2005): Natural transmission of bovine viral diarrhoea virus from a persistently infected calf to goats. *Proceedings of the 6th International Society of Veterinary Virology*, Thun, 2005. Abstract 42.

BACHOFEN, C., H. STALDER, U. BRAUN, M. HILBE, F. EHRENSPERGER and E. PETERHANS (2008): Co-existence of genetically and antigenetically diverse bovine viral diarrhoea viruses in an endemic situation. *Vet. Microbiol.* 131, 93-102.

BAKER, J. C. (1987): Bovine viral diarrhea virus: a review. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190, 1449-1458.

BARBER, D. M. L. and P. F. NETTLETON (1993): Investigations into bovine viral diarrhoea virus in a dairy herd. *Vet. Rec.* 133, 549-550.

BARLOW, R. M., J. T. VANTSIS, A. C. GARDINER, J. C. RENNIE, J. A. HERRING and F. M. M. SCOTT (1980): Mechanisms of natural transmission of border disease. *J. Comp. Pathol.* 90, 57-65.

BARLOW, R. M. and D. S. P. PATTERSON (1982): Border disease of sheep: a virus-induced teratogenic disorder. *Adv. Vet. Med. (Suppl. J. Vet. Med.)* 90, 87-90.

BARLOW, R. M., A. C. GARDINER and P. F. NETTLETON (1983): The pathology of a spontaneous and experimental mucosal disease-like syndrome in sheep recovered from clinical border disease. *J. Comp. Pathol.* 93, 451-461.

BARLOW, R. M., P. F. NETTLETON, A. C. GARDINER, A. GREIG, J. R. CAMPBELL and J. M. BONN (1986): Persistent bovine virus diarrhoea virus infection in a bull. *Vet. Rec.* 118, 321-324.

BECHER, P., A. D. SHANNON, N. TAUTZ and H. J. THIEL (1994): Molecular characterization of border disease virus, a pestivirus from sheep. *Virology* 198, 542-551.

BECHER, P., M. KÖNIG, D. J. PATON and H. J. THIEL (1995): Further characterization of border disease virus isolates: evidence for the presence of more than three species within the genus pestivirus. *Virology* 209, 200-206.

BECHER, P., G. MEYERS, A. D. SHANNON and H. J. THIEL (1996): Cytopathogenicity of border disease virus is correlated with integration of cellular sequences into the viral genome. *J. Virol.* 70, 2992-2998.

BECHER, P., M. ORLICH, A. D. SHANNON, G. HORNER, M. KÖNIG and H. J. THIEL (1997): Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. *J. Gen. Virol.* 78, 1357-1366.

BECHER, P., M. ORLICH and H. J. THIEL (2001): RNA recombination between persisting pestivirus and a vaccine strain: generation of cytopathogenic virus and induction of lethal disease. *J. Virol.* 75, 6256-6264.

BECHER, P., R. A. RAMIREZ, M. ORLICH, S. C. ROSALES, M. KÖNIG, M. SCHWEIZER, H. STALDER, H. SCHIRRMAYER and H. J. THIEL (2003): Genetic and antigenic characterization of novel pestivirus genotypes: implications for classification. *Virology* 311, 96-104.

BENDIXEN, H. J. (1993): Control of pathogens by recycling of biomass. The veterinary research programme in biogas plants. *Dansk Veterinærtidsskrift* 76, 86-99.

BOLIN, S. R., A. W. McCLURKIN and M. F. CORIA (1985): Effects of bovine viral diarrhea virus and the percentages and absolute numbers of circulating B and T lymphocytes in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 46, 884-886.

BOLIN, S. R. and J. F. RIDPATH (1992): Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhea viruses in calves. *Am. J. Vet. Res.* 53, 2157-2163.

BOLIN, S. R. and J. F. RIDPATH (1995): Assessment of protection from systemic infection or disease afforded by low to intermediate titers of passively acquired neutralizing antibody against bovine viral diarrhea virus in calves. *Am. J. Vet. Res.* 56, 755-759.

BONNIWELL, M. A., P. F. NETTLETON, A. C. GARDINER, R. M. BARLOW and J. S. GILMOUR (1987): Border disease without nervous signs or fleece changes. *Vet. Rec.* 120, 246-249.

BRAUN, U., B. THÜR, M. WEISS und T. GIGER (1996): Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease beim Rind – Klinische Befunde bei 103 Kälbern und Rindern. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 138, 465-475.

BRAUN, U., M. SCHÖNMANN, F. EHRENSPERGER, M. HILBE, D. BRUNNER, K. D. STÄRK and T. GIGER (1998): Epidemiology of bovine virus diarrhoea in cattle on communal alpine pastures in Switzerland. *J. Vet. Med. A.* 45, 445-452.

BRAUN, U., M. HILBE, F. EHRENSPERGER, F. SALIS, P. ALTHER, M. STRASSER, H. P. STALDER und E. PETERHANS (2002): Border disease in einem Schafbetrieb. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 144, 419-426.

BRAUN, U., F. SALIS und M. HILBE (2004): Kontaktinfektion von Lämmern bei gemeinsamer Haltung mit einem persistent mit Border-Disease-Virus infizierten Lamm. *Tierärztl. Umschau* 59, 371-373.

BROADDUS, C. C., G. R. HOLYOAK, L. DAWSON, D. L. STEP, R. A. FUNK and S. KAPIL (2007): Transmission of bovine viral diarrhoea virus to adult goats from persistently infected cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 19, 545-548.

BROADDUS, C. C., C. G. LAMM, S. KAPIL, L. DAWSON and G. R. HOLYOAK (2009): Bovine viral diarrhoea virus abortion in goats housed with persistently infected cattle. *Vet. Pathol.* 46, 45-53.

BROWNLIE, J., M. C. CLARKE and C. J. HOWARD (1984): Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. *Vet. Rec.* 114, 535-536.

BROWNLIE, J., M. C. CLARKE, C. J. HOWARD and D. H. POCOCK (1987): Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Ann. Rech. Vet.* 18, 157-166.

BROWNLIE, J. (1990): The pathogenesis of bovine virus diarrhoea virus infections. *Rev.-Off. Int. Epizoot.* 9, 43-59.

BROWNLIE, J. (1991): The pathways for bovine virus diarrhoea virus biotypes in the pathogenesis of disease. *Arch. Virol. Suppl.* 3, 79-96.

BROWNLIE, J., L. B. HOOPER, I. THOMPSON and M. E. COLLINS (1998): Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) - the bovine pestivirus. *Clin. Diagn. Virol.* 10, 141-150.

CAMPBELL, J. R., O. M. RADOSTITS, J. T. WOLFE and E. D. JANZEN (1995): An outbreak of border disease in a sheep flock. *Can. Vet. J.* 36, 307-309.

CARLSSON, U., G. FREDRIKSSON, S. ALENIUS and H. KINDAHL (1989): Bovine virus diarrhoea virus, a cause of early pregnancy failure in the cow. *Zbl. Vet. Med. A.* 36, 15-23.

CARLSSON, U. (1991): Border disease in sheep caused by transmission of virus from cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 128, 145-147.

CARLSSON, U. and K. BELÁK (1994): Border disease virus transmitted to sheep and cattle by a persistently infected ewe: epidemiology and control. *Acta Vet. Scand.* 35, 79-88.

CARMAN, S., N. CARR, J. DELAY, M. BAXI, D. DEREGT and M. HAZLETT (2005): Bovine viral diarrhoea virus in alpaca: abortion and persistent infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* 17, 589-593.

CORIA, M. F., M. J. F. SCHMERR, A. W. McCLURKIN and S. R. BOLIN (1984): Differentiation of cytopathic and noncytopathic isolates of bovine viral diarrhoea virus by virus neutralization. *Am. J. Vet. Res.* 45, 2129-2131.

CRANWELL, M. P., A. OTTER, J. ERRINGTON, R. A. HOGG, P. WAKELEY and T. SANDVIK (2007): Detection of border disease virus in cattle. *Vet. Rec.* 161, 211-212.

DEPNER, K., O. J. B. HÜBSCHLE and B. LIESS (1991): BVD-virus infection in goats - experimental studies on transplacental transmissibility of the virus and its effect on reproduction. *Arch. Virol.* 3, 253-256.

DEREGT, D., S. V. TESSARO, M. K. BAXI, J. BEREZOWSKI, J. A. ELLIS, J. T. Y. WU and S. A. GILBERT (2005): Isolation of bovine viral diarrhoea viruses from bison. *Vet. Rec.* 157, 448-450.

DONE, J. T., S. TERLECKI, C. RICHARDSON, J. W. HARKNESS, J. J. SANDS, D. S. PATTERSON, D. SWEASEY, I. G. SHAW, C. E. WINKLER and S. J. DUFFELL (1980): Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus: pathogenicity for the fetal calf following maternal infection. *Vet. Rec.* 106, 473-479.

DUFFELL, S. J. and J. W. HARKNESS (1985): Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Vet. Rec.* 117, 240-245.

ELLIS, J. A., K. H. WEST, V. S. CORTESE, S. L. MYERS, S. CARMAN, K. M. MARTIN and D. M. HAINES (1998): Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent bovine virus diarrhea virus-type II. *Can. J. Vet. Res.* 62, 161-169.

FAUQUET, C. M., M. A. MAYO, J. MANILOFF, U. DESSELBERGER and L. A. BALL (2005): Virus taxonomy, classification and nomenclature of viruses. Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. London, Academic Press.

FENTON, A., G. ENTRICAN, J. A. HERRING and P. F. NETTLETON (1990): An ELISA for detecting pestivirus antigen in the blood of sheep persistently infected with border disease virus. *J. Virol. Meth.* 27, 253-260.

FOSTER, A. P., M. G. HOULIHAN, J. P. HOLMES, E. J. WATT, R. J. HIGGINS, J. ERRINGTON, G. IBATA and P. R. WAKELEY (2007): Bovine viral diarrhoea virus infection of alpacas (*Vicugna pacos*) in the UK. *Vet. Rec.* 161, 94-99.

FRAY, M. D., M. C. CLARKE, L. H. THOMAS, J. W. McCAULEY and B. CHARLESTON (1998): Prolonged nasal shedding and viraemia of cytopathogenic bovine virus diarrhoea virus in experimental late-onset mucosal disease. *Vet. Rec.* 143, 608-611.

FREDRIKSEN, B., T. SANDVIK, T. LØKEN and S. A. ØDEGAARD (1999): Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 144, 111-114.

FRENCH, E. L., D. E. HORE, W. A. SNOWDON, I. M. PARSONSON and J. UREN (1974): Infection of pregnant ewes with mucosal disease virus of ovine origin. *Aust. Vet. J.* 50, 45-54.

FRITZEMEIER, J., L. HAAS, E. LIEBLER, V. MÖNNIG and I. GREISER-WILKE (1997): The development of early vs. late onset mucosal disease is a consequence of two different pathogenic mechanisms. *Arch. Virol.* 142, 1335-1350.

FULTON, R. W., J. F. RIDPATH, J. T. SALIKI, R. E. BRIGGS, A. W. CONFER, L. J. BURGE, C. W. PURDY, R. W. LOAN, G. C. DUFF and M. E. PAYTON (2002): Bovine viral diarrhea virus (BVDV) 1b: predominant BVDV subtype in calves with respiratory disease. *Can. J. Vet. Res.* 66, 181-190.

FULTON, R. W., R. E. BRIGGS, J. F. RIDPATH, J. T. SALIKI, A. W. CONFER, M. E. PAYTON, G. C. DUFF, D. L. STEP and D. A. WALKER (2005): Transmission of bovine viral diarrhoea virus 1b to susceptible and vaccinated calves by exposure to persistently infected calves. *Can. J. Vet. Res.* 69, 161-169.

GARCÍA-PÉREZ, A. L., E. MINGUIJÓN, L. ESTÉVEZ, J. F. BARANDIKA, G. ADURIZ, R. A. JUSTE and A. HURTADO (2008): Clinical and laboratorial findings in pregnant ewes and their progeny infected with border disease virus (BDV-4 genotype). *Res. Vet. Sci.* 2008, doi: 10.1016/j.rvsc.2008.07.04.

GUNN, H. M. (1993): Role of fomites and flies in the transmission of bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 132, 584-585.

HARKNESS, J. W. (1985): Classical swine fever and its diagnosis: a current view. *Vet. Rec.* 116, 288-293.

HOUE, H. (1995): Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Clin. North. Am. (Food. Anim. Pract.)* 11, 521-547.

HUGHES, L. E., G. F. KERSHAW and I. G. SHAW (1959): "B" or border disease. An undescribed disease of sheep. *Vet. Rec.* 71, 313-317.

HURTADO, A., G. ADURIZ, N. GÓMEZ, B. OPORTO, R. A. JUSTE, S. LAVIN, J. R. LOPEZ-OLVERA and I. MARCO (2004): Molecular identification of a new pestivirus associated with increased mortality in the Pyrenean Chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*) in Spain. *J. Wildl. Dis.* 40, 796-800.

IGNASI, M., R. ROSELL, O. CABEZÓN, G. MENTABERRE, E. CASAS, R. VELARDE, J. R. LÓPEZ-OLVERA, A. HURTADO and S. LAVÍN (2008): Epidemiological study of border disease virus infection in Southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) after an outbreak of disease in the Pyrenees (NE Spain). *Vet. Microbiol.* 127, 29-38.

JACOBS, R. M., B. HORNEY and L. BEINER (1981): Cutaneous response to PHA-M and hematologic changes in corticosteroid treated cows. *Can. J. Comp. Med.* 45, 384-387.

KIM, I. J., B. H. HYUN, J. H. SHIN, K. K. LEE, K. W. LEE, K. O. CHO and M. I. KANG (2006): Identification of bovine viral diarrhoea virus type 2 in Korean native goat (*Capra hircus*). *Virus Res.* 121, 103-106.

KRAMETTER, R., S. S. NIELSEN, A. LOITSCH, W. FRÖTSCHER, V. BENETKA, K. MÖSTL and W. BAUMGARTNER (2004): Pestivirus exposure in free-living and captive deer in Austria. *J. Wildl. Dis.* 40, 791-795.

KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., A. LOITSCH, H. KOHLER, A. SCHLEINER, P. SCHIEFER, K. MÖSTL, F. GOLJA and W. BAUMGARTNER (2006): Prevalence of antibodies to pestiviruses in goats in Austria. *J. Vet. Med. B* 53, 48-50.

KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., H. KOHLER, V. BENETKA, K. MÖSTL, F. GOLJA, S. VILČEK and W. BAUMGARTNER (2007): Influence of communal alpine pasturing on the spread of pestiviruses among sheep and goats in Austria: first identification of border disease virus in Austria. *Zoonoses Public Health* 54, 209-213.

KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., V. BENETKA, K. MÖSTL and W. BAUMGARTNER (2008a): Transmission of border disease virus from sheep to calves – a possible risk factor for the Austrian BVD eradication programme in cattle? *Wien. Tierärztl. Mschr.* 95, 200-203.

KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., V. BENETKA, M. DÜNSER, Z. BAGÓ, A. THEINER, B. PREYLER, K. MÖSTL, S. VILČEK and W. BAUMGARTNER (2008b): Descriptive study of a pestivirus infection in an Austrian goat. *Vet. Rec.* 163, 192-194.

LAMONTAGNE L., P. LAFORTUNE and M. FOURNEL (1989): Modulation of the cellular responses to T-cell-dependent and T-cell-independent antigens in lambs with induced bovine viral diarrhea virus infection. *Am. J. Vet. Res.* 50, 1604-1608.

LIESS, B., H. BLINDOW, S. ORBAN, B. SASSE-PATZER, H. R. FREY und D. TIMM (1982): Aborte, Totgeburten, Kümmern, Lämmersterben in zwei Schafherden Nordwestdeutschlands – “Border Disease” in der Bundesrepublik? *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 89, 6-11.

LIESS, B. (1985): Bedeutung der Immuntoleranz für die Pathogenese der bovinen Virusdiarrhoe (BVD). *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 98, 420-423.

LØKEN, T., I. BJERKÅS and B. HYLLSETH (1982): Border disease in goats in Norway. *Res. Vet. Sci.* 33, 130-131.

LØKEN, T., I. BJERKÅS and H. J. LARSEN (1990): Experimental pestivirus infections in newborn goat kids. *J. Comp. Pathol.* 103, 277-288.

LØKEN, T. and I. BJERKÅS (1991): Experimental pestivirus infections in pregnant goats. *J. Comp. Pathol.* 105, 123-140.

LØKEN, T. (1995): Ruminant pestivirus infections in animals other than cattle and sheep. *Vet. Clin. North. Am. (Food. Anim. Pract.)* 11, 597-614.

MARCO, I., R. ROSELL, O. CABEZÓN, G. MENTABERRE, E. CASAS, R. VELARDE, J. R. LÓPEZ-OLVERA, A. HURTADO and S. LAVÍN (2008): Epidemiological study of border disease virus infection in southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) after an outbreak of disease in the pyrenees (NE Spain). *Vet. Microbiol.* 127, 29-38.

MARS, M. H., C. J. M. BRUSCHKE and J. T. VAN OIRSCHOT (1999): Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Vet. Microbiol.* 66, 197-207.

MATTSON, D. E., R. J. BAKER, J. E. CATANIA, S. R. IMBUR, K. M. WELLEJUS and R. B. BELL (2006): Persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in an alpaca. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 228, 1762-1765.

MONIES, R. J. and V. R. SIMPSON (1997): Syndrome in sheep resembling mucosal disease in cattle. *Vet. Rec.* 141, 451.

MÖNNIG, V. and P. G. N. PLAGEMANN (1992): The pestiviruses. *Adv. Virus Res.* 41, 53-98.

MÖNNIG, V., I. GREISER-WILKE, H. R. FREY, L. HAAS, E. LIEBLER, J. POHLENZ and B. LIESS (1993): Prolonged persistence of cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in a persistently viremic cattle. *J. Vet. Med. B* 40, 371-377.

NETTLETON, P. F. (1990): Pestivirus infections in ruminants other than cattle. *Rev. Sci. Tech.* 9, 131-150.

NETTLETON, P. F., J. S. GILMOUR, J. A. HERRING and J. A. SINCLAIR (1992): The production and survival of lambs persistently infected with border disease virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 15, 179-188.

NETTLETON, P. F. and G. ENTRICAN (1995): Ruminant pestiviruses. *Br. Vet. J.* 151, 615-642.

NETTLETON, P. F., J. A. GILRAY, P. RUSSO and E. DLISSI (1998): Border disease of sheep and goats. *Vet. Res.* 29, 327-340.

NISKANEN, R., A. LINDBERG, B. LARSSON and S. ALENIOUS (2000): Lack of virus transmission from bovine viral diarrhoea virus infected calves to susceptible peers. *Acta Vet. Scand.* 41, 93-99.

NISKANEN, R. and A. LINDBERG (2003): Transmission of bovine viral diarrhoea virus by unhygienic vaccination procedures, ambient air, and from contaminated pens. *Vet. J.* 165, 125-130.

PATON, D. J., J. J. SANDS, J. P. LOWINGS, J. E. SMITH, G. IBATA and S. EDWARDS (1995a): A proposed division of the pestivirus genus using monoclonal antibodies, supported by cross-neutralisation assays and genetic sequencing. *Vet. Res.* 26, 92-109.

PATON, D. J., U. CARLSSON, J. P. LOWINGS, J. J. SANDS, S. VILČEK and S. ALENIUS (1995b): Identification of herd-specific bovine viral diarrhoea virus isolates from infected cattle and sheep. *Vet. Microbiol.* 43, 283-294.

PATON, D., M. GUNN, J. SANDS, F. YAPP, T. DREW, S. VILČEK and S. EDWARDS (1997): Establishment of serial persistent infections with bovine viral diarrhoea virus in cattle and sheep and changes in epitope expression related to host species. *Arch. Virol.* 142, 929-938.

PELLERIN, C., J. VAN DEN HURK, J. LECOMTE and P. TIJSSEN (1994): Identification of a new group of bovine viral diarrhoea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities. *Virology* 203, 260-268.

PIOZ, M., A. LOISON, P. GIBERT, D. DUBRAY, P. MENAUT, B. LE TALLEC, M. ARTOIS and E. GILOT-FROMONT (2007): Transmission of a pestivirus infection in a population of pyrenean chamois. *Vet. Microbiol.* 119, 19-30.

PLOWRIGHT, W. (1969): Other virus disease in relation the J. P. 15 programme. In Joint Campaign Against Rinderpest. First Technical Review Meeting, Phase IV, Mogadiscio, pp. 10-23. Mogadiscio, Kenya.

PRATELLI, A., V. MARTELLA, F. CIRONE, D. BUONAVOGLIA, G. ELIA, M. TEMPESTA and C. BUONAVOGLIA (2001): Genomic characterization of pestiviruses isolated from lambs and kids in southern Italy. *J. Virol. Methods* 94, 81-85.

RADOSTITS, O. M. and I. R. LITTLEJOHNS (1988): New concepts in the pathogenesis, diagnosis and control of diseases caused by the bovine viral diarrhoea virus. *Can. Vet. J.* 29, 513-528.

REBHUN, W. C., T. W. FRENCH, J. A. PERDRIZET, E. J. DUBOVI, S. G. DILL and L. F. KARCHER (1989): Thrombocytopenia associated with acute bovine virus diarrhoea infection in cattle. *J. Vet. Intern. Med.* 3, 42-46.

REED, L. J. and H. MÜNCH (1938): Simple methods of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.* 27, 493-497.

REICHERT, C. (2009): Infektion bei Kälbern, Ziegen und Schafen mit dem Border-Disease-Virus. Dissertation, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich.

RIDPATH, J. F., S. R. BOLIN and E. J. DUBOVI (1994): Segregation of bovine viral diarrhea virus into genotypes. *Virology* 205, 66-74.

RIDPATH, J. F. and S. R. BOLIN (1995): Delayed onset postvaccinal mucosal disease as a result of genetic recombination between genotype 1 and genotype 2 BVDV. *Virology* 212, 259-262.

RIDPATH, J. F., J. D. NEILL and E. PETERHANS (2007): Impact of variation in acute virulence of BVDV1 strains on design of better vaccine efficacy challenge models. *Vaccine* 25, 8058-8066.

ROEDER, P. L., M. JEFFREY and T. W. DREW (1987): Variable nature of border disease on a single farm: the infection status of affected sheep. *Res. Vet. Sci.* 43, 28-33.

ROEHE, P. M., M. J. WOODWARD and S. EDWARDS (1992): Characterisation of p20 gene sequences from a border disease-like pestivirus isolated from pigs. *Vet. Microbiol.* 33, 231-238.

ROTH, J. A., M. L. KAEBERLE and R. W. GRIFFITH (1981): Effects of bovine viral diarrhea virus infection and bovine polymorphonuclear leukocyte function. *Am. J. Vet. Res.* 42, 2244-2250.

RÜFENACHT, J., P. SCHALLER, L. AUDIGÉ, M. STRASSER and E. PETERHANS (2000): Prevalence of cattle infected with bovine viral diarrhoea virus in Switzerland. *Vet. Rec.* 147, 413-417.

SAWYER, M. M., C. E. SCHORE, P. I. MENZIES and B. I. OSBURN (1986): Border disease in a flock of sheep: epidemiologic, laboratory and clinical findings. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 189, 61-65.

SAWYER, M. M. (1992): Border disease of sheep: The disease in the newborn, adolescent and adult. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 15, 171-177.

SCHALLER, P., H. R. VOGT, M. STRASSER, P. F. NETTLETON, E. PETERHANS und R. ZANONI (2000): Seroprävalenz von Maedi-Visna und Border Disease in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 142, 145-153.

SCHERER, C. F. C., E. F. FLORES and R. WEIBLEN (2001): Experimental infection of pregnant ewes with bovine viral diarrhea virus type-2 (BVDV 2): effects on the pregnancy and fetus. *Vet. Microbiol.* 79, 285-299.

SCHLEINER, A., R. KRAMETTER-FRÖTSCHER, P. SCHIEFER, A. LOITSCH, F. GOLJA, K. MÖSTL und W. BAUMGARTNER (2006): Seroepidemiologische Untersuchung in Kärnten zur Verbreitung von ruminanten Pestiviren. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 119, 203-208.

STALDER, H. P., P. MEIER, G. PFAFFEN, C. WAGECK-CANAL, J. RÜFENACHT, P. SCHALLER, C. BACHOFEN, S. MARTI, H. R. VOGT and E. PETERHANS (2005): Genetic heterogeneity of pestiviruses of ruminants in Switzerland. *Prev. Vet. Med.* 72, 37-41; discussion 215-219.

STALDER, H. (2008): Phylogenetische Analyse der Pestiviren, basierend auf der für das Virusprotein Npro-kodierenden Sequenz. In: Poster 3.16, 7. Pestivirus-Symposium (16. - 19. 09. 2008, Uppsala, Schweden).

STECK, F., S. LAZARY, H. FEY, A. WANDELER, C. HUGGLER, G. OPLIGER, H. BAUMBERGER, R. KADERLI and J. MARTIG (1980): Immune responsiveness in cattle fatally affected by bovine virus diarrhea-mucosal disease. *Zbl. Vet. Med. B* 27, 429-445.

SULLIVAN, D. G., G. J. CHANG and R. K. AKKINA (1997): Genetic characterization of ruminant pestiviruses: sequence analysis of viral genotypes isolated from sheep. *Virus Res.* 47, 19-29.

TAYLOR, J. A. (2000): Leukocyte responses in ruminants. In: *Schalm's Veterinary Hematology*. Eds. B. F. Feldmann, F. G. Zinkl and N. C. Jain. Fifth edition. Lippincott Williams and Wilkins, USA, 391-404.

TERPSTRA, C. (1981): Border disease: virus persistence, antibody response and transmission studies. *Res. Vet. Sci.* 30, 185-191.

TERPSTRA, C. (1985): Border disease: a congenital infection of small ruminants. *Prog. Vet. Microbiol. Immunol.* 1, 175-198.

THABTI, F., L. FRONZAROLI, E. DLISSI, J. M. GUIBERT, S. HAMMAMI, M. PEPIN and P. RUSSO (2002): Experimental model of border disease virus infection in lambs: comparative pathogenicity of pestiviruses isolated in France and Tunisia. *Vet. Res.* 33, 35-45.

THÜR, B., M. HILBE, M. STRASSER and F. EHRENSPERGER (1997): Immunohistochemical diagnosis of pestivirus infection associated with bovine and ovine abortion and perinatal death. *Am. J. Vet. Res.* 58, 1371-1375.

TRAVEN M., S. ALENIUS, C. FOSSUM and B. LARSSON (1991): Primary bovine viral diarrhoea virus infection in calves following direct contact with a persistently viraemic calf. *Zbl. Vet. Med. B* 38, 453-462.

VILČEK, S. and S. BELÁK (1996): Genetic identification of pestivirus strain Frijters as a border disease virus from pigs. *J. Virol. Methods* 60, 103-108.

VILČEK, S., P. F. NETTLETON, D. J. PATON and S. BELÁK (1997): Molecular characterization of ovine pestiviruses. *J. Gen. Virol.* 78, 725-735.

VILČEK, S. and P. F. NETTLETON (2006): Pestiviruses in wild animals. *Vet. Microbiol.* 116, 1-12.

WEISS, D. J. and V. PERMAN (1992): Assessment of the hematopoietic system in ruminants. *Vet. Clin. North. Am. (Food. Anim. Pract.)* 8, 411-428.

WEISS, M., C. HERTIG, M. STRASSER, H. R. VOGT und E. PETERHANS (1994): Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease: eine Übersicht. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 136, 173-185.

WENGLER, G. (1991): Flaviviridae. In: Classification and Nomenclature of Viruses. Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Eds. R. I. B. Francki, C. M. Fauquet, D. L. Knudson and F. Brown. *Arch. Virol. Suppl.* 2, 223-233.

WENTZ, P. A., E. B. BELKNAP, K. V. BROCK, J. K. COLLINS and D. G. PUGH (2003): Evaluation of bovine viral diarrhea virus in new world camelids. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223, 223-228.

WILLOUGHBY, K., B. VALDAZO-GONZÁLEZ, M. MALEY, J. GILRAY and P. F. NETTLETON (2006): Development of a real time RT-PCR to detect and type ovine pestiviruses. *J. Virol. Methods* 132, 187-194.

9. LEBENSLAUF

Simone Florence Reichle

26. Oktober 1979 geboren in St.Gallen

1985 – 1991	Primarschule in Eggersriet (SG)
1992 – 1994	Sekundarschule in St. Gallen
1994 – 1998	Kantonsschule in St. Gallen, Maturität Typus B
1999 – 2006	Studium der Veterinärmedizin an der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich mit Staatsexamen
Jan. – Sept. 2007	Doktorandin am Departement für Nutztiere der Universität Zürich
Seit Okt. 2007	Assistentin und Doktorandin am Departement für Nutztiere der Universität Zürich.

10. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich allen ganz herzlich danken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. U. Braun für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referats, ebenso für die Unterstützung während der Untersuchung und die Korrektur der Dissertation.

Herrn Prof. Dr. E. Peterhans für die Übernahme des Korreferats.

Herrn Prof. Dr. H. Lutz und den Laborantinnen des Veterinärmedizinischen Labors für die Ausführung der Laboruntersuchungen.

Herrn Prof. Dr. M. Hässig für die wertvolle Hilfe bei den statistischen Auswertungen.

Frau Dr. C. Bachofen für ihre stets unterstützende, inspirierende und unersetzliche Hilfe während der gesamten Zeit.

Herrn PD Dr. F. Janett für die grosszügigen Hilfeleistungen.

Thérèse de Vries, Barbara Bircher, Constanze Führer, Vera Letter, Eva Forster und Sandra Welti für die starke Unterstützung im Stall während der gesamten Untersuchungszeit.

Herrn Christof Reichert für die geduldigen Hilfeleistungen bei unzähligen Computerschwierigkeiten.

Meiner Familie und meinem liebsten Freund Marc Bertschi für die Geduld und die unglaublich wertvolle Unterstützung.